



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : [http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints ID : 5099](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/ID/5099)

To cite this version :

Colange, Hélène. *Contribution à l'étude du repas sanguin de Phlebotomus perniciosus (Diptera: Psychodidae)*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2011, 78 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

ANNEE 2011 THESE : 2011 – TOU 3 – 4052

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU REPAS SANGUIN DE *Phlebotomus perniciosus* (*Diptera: Psychodidae*)

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

COLANGE Hélène
Née, le 1 Juillet 1986 à AURILLAC (15)

Directeur de thèse : M. Michel FRANC

JURY

PRESIDENT :
M. Jean-François MAGNAVAL

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEURS :
M. Michel FRANC
M. Philippe JACQUIET

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de la Pêche
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : M. A. MILON

Directeurs honoraires : M. G. VAN HAVERBEKE.
M. P. DESNOYERS

Professeurs honoraires :

M. L. FALIU	M. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE MENDRES NEGRE
M. C. LABIE	M. JF. GUELF	M. DORCHIES
M. C. PAVAU	M. EECKHOUTTE	
M. F. LESCURE	M. D.GRIESS	
M. A. RICO	M. CABANIE	
M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{re} CLASSE

M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 2^{de} CLASSE

Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
M. **MAGNE Laurent**, *Urgences soins-intensifs*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
M **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants.*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

M. **SOUBIES Sébastien**, *Microbiologie et infectiologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie*
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*
Mlle **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
M **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

A Monsieur le Professeur Jean-François MAGNAVAL

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Parasitologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A Monsieur le Professeur Michel FRANC

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Parasitologie et Maladies Parasitaires

Qui est à l'origine de ce travail et nous a fait l'honneur de diriger notre thèse.

En témoignage de notre gratitude et de notre profond respect.

Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Philippe JACQUIET

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Parasitologie et Maladies Parasitaires

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.

Pour la gentillesse dont il a toujours fait preuve à notre égard.

Sincères remerciements.

A Mademoiselle le Docteur Emilie BOUHSIRA

Un grand merci pour ta précieuse implication dans ce travail, ton oreille toujours attentive, ta disponibilité et ta gentillesse,
Tes conseils avisés et ton aide ont permis à ce travail d'aboutir,
Sois assurée de ma profonde gratitude et de mon amitié.

A Madame Martine ROQUES

Pour votre aide sans faille, malgré certaines semaines de travail bien chargées, votre gentillesse et votre patience, sans lesquelles la réalisation de cette étude n'aurait pas été possible.
Pour le plaisir que j'ai eu à travailler avec vous.

A Madame Solange VERMOT

Pour m'avoir épaulée, toujours dans la bonne humeur,
En témoignage de ma sympathie et de ma reconnaissance.

A Mademoiselle Sonia GOUNAUD

Qui m'a toujours accueillie chaleureusement et prêté assistance dès que possible.
Tous mes remerciements.

A Monsieur Pierre RESSEGUIER

Pour avoir partagé avec moi les doutes et les réflexions relatifs à nos travaux de thèse,
Pour avoir essuyé les plâtres et les galères des expérimentations avant moi,
Cette collaboration, ainsi que tous les bons moments passés à l'école en ta compagnie furent un plaisir.

A Papa et Maman, pour votre amour et votre confiance à chaque moment de ma vie, pour votre soutien dans les moments difficiles, pour l'éducation et les valeurs que vous m'avez inculquées, pour tout ce que vous m'avez fait découvrir. Ces quelques lignes ne peuvent résumer les liens qui nous unissent mais vous savez à quel point ils sont forts.

A mon Vince, car bien que je passe plus de temps à me chamailler avec toi qu'à te dire à quel point tu comptes pour moi, j'espère que tu sais mon frère combien je t'aime et je suis fière de toi, et à **Marion** pour le bonheur qu'elle t'apporte.

A mes grands-parents pour votre amour et votre soutien permanent, j'espère vous avoir encore longtemps à mes côtés pour partager les belles choses que la vie nous réserve.

A ma famille, pour m'avoir toujours encouragée et épaulée dans mes projets.

A mon Gaston, le plus beau, le plus fort, je t'aime.

A Françoise, Jean-Claude, Delphine et toute la famille de Florent pour m'avoir accueilli avec tant de gentillesse, pour les bons moments passés ensemble et tous ceux à venir.

A mes moules Emi, Marie et Ludi pour tous les fous rires, les garçons, le lycée, les soirées, les vacances que nous avons partagés.

A Marielle, une vraie amie toujours là pour moi malgré nos différents, je sais que nous ne nous perdrons pas de vue.

A Cam, pour les trésors de gentillesse et d'humour dont tu recèles, ainsi qu'à ton cher et tendre **Thibaud**, j'espère que nos chemins se croiseront souvent dans les années futures.

A Pauline et Romain, pour tous nos bons moments en cliniques, en soirée, dans le Verdon ou encore notre co-vice-présidence des brimades et parce que sans toi Po je n'ai plus de copine avec qui être une peste.

A Mag et Nico, pour toutes ces qualités qui se cachent derrière votre discrétion.

A Lulu, en l'honneur de la Passat, des sebbagites, des surimis, du jeu du Juif et autres souvenirs non négociables.

Aux copains du Château : Germain pour m'avoir fait croire que j'allais mourir en mer et malgré tout apprécier la voile, **Julie** pour notre piètre team à Qui Veut Gagner des Millions, nos bavardages et ta belle bicyclette bleue, **Laz** pour tes blagues raffinées, tes performances en anglais au lendemain de la boum taïaut et toutes ces qualités que j'ai découvert chez toi,

Manon pour ton aptitude à être saoule plus vite que ton ombre, **Nanar** en souvenir d'un certain Gala Lulu et des conneries de nos setters, **Jean-Da** pour nos sorties en VTT, **Antoine** pour tes talents de tennisman et de décorateur d'intérieur, **Steve** pour ton appétit et ton énergie inépuisable, **Antonio** pour tes leçons de séduction et tes heures passées dans la salle de bains. Et tous ces petits instants avec vous à la coloc ou ailleurs qui ont tant contribué à rendre ces années magiques. Sans oublier Alpha, Campbell, Filou et Jo (désolée Jean-Luc je ne t'ai jamais aimé).

A Marie-Laure, pour ton cœur d'artichaut, nos après-midi à l'hippodrome, notre soirée au Cordon Rose, mon initiation au golf et surtout nos bavardages, ne t'éloigne pas trop.

A Grande Manon, mi-aventurière mi-Bouledog'attitude, objet de tant de fantasmes, pour ton éternelle bonne humeur et tous tes potins, les gens seraient plus heureux s'ils avaient tous une Grande Manon dans leur vie.

A Clémence, pour la messe noire, nos bêtises de boum et notre team « mafé ».

A Pinpin, pour ton grand cœur, notre porte vous est grande ouverte à toi et ta moitié.

A tous ceux grâce à qui ces 4 années à l'école resteront inoubliables : Morgane, Laurie, Angel, Marie, Laure, Vincent, Claire, Mathieu, Marion, Pauline, Audrey, Thomas, Elisa, Sarah, Mumu, Martin, Gued et autres zozos de Miramar...

A mes docteurs pour m'avoir si bien brimée et fait aimer l'ENVT dès le premier jour, pensée toute particulière pour Jeanne, Nath, Delphine, Gazou, Mathieu, Piton, Baptiste, Mickaël, Anne et Anne.

A mes poulots, 1^e et 2^e génération, et plus particulièrement à Marine, Julie, Pauline, Annabelle et Claire.

Aux copains de Lyon pour avoir accueilli deux toulousains perdus en terre marcyenne, et tout spécialement à nos voisins Grégou et Clémence, et à Jess.

A Colette et Lulu sans qui ces années n'auraient pas eu le même charme.

Et à mon Iron, pour toutes ces heures passées à t'attendre, sans regret.

A Timide, Blanchette, Top Model, Speed et leurs copains si peu rancuniers.

TABLE DES MATIERES

Table des illustrations	11
Introduction	13
Première partie : synthèse des connaissances actuelles concernant <i>Phlebotomus</i>	
<i>perniciosus</i>	15
I. Généralités sur les phlébotomes	15
1. Quelques éléments de taxonomie	15
2. Morphologie	15
3. Durée de vie des adultes	16
4. Habitat.....	17
5. Activité	17
6. Reproduction et cycle	18
II. Nutrition des phlébotomes	20
1. Régime alimentaire	20
2. Description des pièces buccales.....	21
a. Chez la femelle	21
b. Chez le mâle	25
3. Déroulement du repas sanguin.....	25
4. Composition de la salive.....	26
III. <i>Phlebotomus perniciosus</i> , vecteurs d'agents pathogènes	27
1. Vecteur de leishmanioses	27
a. Définition de la leishmaniose	27
b. Etiologie	27
c. Epidémiologie	28
d. Espèces touchées	29
e. Symptômes	30
i. La leishmaniose humaine	30
ii. La leishmaniose canine	31
2. Vecteur d'arbovirus	31
Seconde partie : étude expérimentale du repas sanguin de <i>Phlebotomus perniciosus</i>	
IV. Etude des sites de gorgement de <i>Phlebotomus perniciosus</i> chez le chien.....	33
1. Objectifs.....	33

2.	Matériels et méthodes	33
a.	Description des locaux d'expérimentation	33
b.	Description des populations étudiées	33
c.	Protocole expérimental	34
3.	Résultats et interprétation	37
4.	Discussion.....	38
V.	Etude du temps de gorgement de <i>Phlebotomus perniciosus</i>	40
1.	Objectifs.....	40
2.	Matériels et méthodes	40
a.	Description des locaux d'expérimentation	40
b.	Description des populations étudiées	40
c.	Protocole expérimental	41
3.	Résultats et interprétation	42
a.	Influence de la température	43
b.	Temps moyen de gorgement d'une femelle phlébotome dans la tranche thermique étudiée.....	43
4.	Discussion.....	44
a.	Influence de la température	44
b.	Temps moyen de gorgement d'une femelle phlébotome.....	44
VI.	Etude de l'influence du vent sur le comportement hématophage de <i>P. perniciosus</i>	45
1.	Objectifs.....	45
2.	Matériels et méthodes	45
a.	Description des locaux d'expérimentation	45
b.	Description des populations étudiées	45
c.	Protocole expérimental	46
3.	Résultats et interprétation	48
a.	Séries de données collectées pour chaque chien.....	48
b.	Moyennes des données recueillies pour chaque vitesse de vent.....	48
4.	Discussion.....	49
	Conclusion.....	53
	Bibliographie.....	57
	Annexe A	65
	Annexe B	69
	Annexe C	71

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures

<i>Figure 1 : Apparence typique d'un phlébotome adulte de l'espèce <i>Phlebotomus papatasi</i>.....</i>	<i>16</i>
<i>Figure 2 : Morphologie de la tête d'une femelle <i>Phlebotomus papatasi</i>.....</i>	<i>22</i>
<i>Figure 3 : Section en zone proximale du proboscis d'une femelle <i>Phlebotomus papatasi</i>.....</i>	<i>23</i>
<i>Figure 4 : Palpe maxillaire d'une femelle <i>Phlebotomus papatasi</i>.....</i>	<i>24</i>
<i>Figure 5 : Fiche d'observation des sites de gorgement des phlébotomes.....</i>	<i>37</i>
<i>Figure 6 : Mesures du temps de gorgement des femelles phlébotomes en environnement de température variable et d'humidité fixe (60%).....</i>	<i>42</i>

Graphiques

<i>Graphique 1 : Temps moyen de gorgement (avec écart-type) des femelles phlébotomes en fonction de la température de l'environnement</i>	<i>43</i>
<i>Graphique 2 : Pourcentage de femelles phlébotomes gorgées au bout d'une heure au contact d'un chien en fonction de la force du vent et du chien testé</i>	<i>48</i>
<i>Graphique 3 : Pourcentage moyen (avec écart-type) de femelles phlébotomes gorgées au bout d'une heure au contact d'un chien en fonction de la force du vent</i>	<i>49</i>

Photographies

<i>Photo 1 : Phlébotomes se gorgeant sur la face interne du pavillon auriculaire du chien</i>	<i>35</i>
<i>Photo 2 : Phlébotomes se gorgeant sur l'abdomen d'une chienne</i>	<i>35</i>
<i>Photo 3 : Aspect macroscopique d'une femelle <i>Phlebotomus perniciosus</i> non gorgée</i>	<i>36</i>
<i>Photo 4 : Aspect macroscopique de femelles <i>Phlebotomus perniciosus</i> gorgées</i>	<i>36</i>
<i>Photo 5 : Aspect macroscopique d'une femelle <i>Phlebotomus perniciosus</i> gorgée</i>	<i>36</i>

INTRODUCTION

Phlebotomus perniciosus est un insecte nématocère de la famille des Psychodidés largement répandu dans le bassin méditerranéen. Il est responsable de nuisances de par ses piqûres douloureuses mais il est également impliqué dans la transmission d'agents pathogènes. En France, cette espèce est un vecteur majeur de leishmaniose. Cette protozoose zoonotique, commune aux canidés et à l'Homme, est due au développement et à la multiplication dans les cellules du système des phagocytes mononucléés d'un flagellé du genre *Leishmania*. En raison de ses manifestations cliniques, cette maladie constitue un sérieux problème de santé publique à l'échelle mondiale mais aussi économique et social. La leishmaniose est endémique dans 88 pays et l'Organisation Mondiale de la Santé estime à 2 millions le nombre de nouveaux cas humains par an avec environ 12 millions d'individus infectés dans le monde. En France, tout le pourtour méditerranéen est considéré comme zone d'endémie. Le Centre National de Référence des *Leishmania*, créé en 1998 et basé à Montpellier, a notamment pour mission de surveiller et d'enregistrer tous les cas de leishmaniose détectés en France métropolitaine. Chaque année, il recense près d'une vingtaine de cas humains autochtones.

Le chien représente le principal réservoir de leishmanies et il a été montré que le risque d'infection est dépendant de la présence de chien(s) porteur(s) dans le voisinage [14,42]. En région enzootique, la prévalence de la leishmaniose canine clinique varierait de 2 à 10% en l'absence de toute prophylaxie [1]. La transmission de cette maladie au chien ou à l'Homme se produit à l'occasion d'une piqûre par un phlébotome infesté par des leishmanies, cette infestation s'étant elle-même produite lors d'un précédent repas sanguin sur un individu porteur de leishmanies.

Alors que les conditions de vie de *Phlebotomus perniciosus* ont fait l'objet de nombreuses publications, les observations relatives à certaines caractéristiques de son repas sanguin sont moins denses. Pourtant, une connaissance plus précise de ce comportement pourrait avoir des applications dans la lutte contre cette parasitose. Après une synthèse des données bibliographiques disponibles sur ce sujet, notre étude précise expérimentalement trois aspects distincts du repas sanguin de *Phlebotomus perniciosus* : sa localisation privilégiée sur

un chien, sa durée et l'impact éventuel d'un facteur environnemental, le vent, sur cette activité.

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE DES CONNAISSANCES

ACTUELLES CONCERNANT *PHLEBOTOMUS PERNICIOSUS*

I. Généralités sur les phlébotomes

1) Quelques éléments de taxonomie

Les phlébotomes sont des insectes diptères nématocères. Ils appartiennent à la famille des Psychodidae et à la sous-famille des Phlebotominae. Cette dernière comporte quelques 700 à 800 espèces regroupées en 5 à 24 genres selon les auteurs [15,30,33,34,35,40,48]. Au cours de notre étude, nous utiliserons comme modèle l'espèce *Phlebotomus perniciosus* qui appartient au genre *Phlebotomus* et au sous-genre *Larrousius* [20].

2) Morphologie

Les phlébotomes sont des insectes de petite taille : *Phlebotomus perniciosus* mesure environ 2 mm de long. D'allure grêle, ils sont de couleur brunâtre. Ils possèdent de longues pattes et un thorax bossu recouvert de soies. Les ailes, très poilues également, sont lancéolées et dressées en forme de « V » au-dessus du corps au repos (fig. 1).

Les antennes étant identiques chez les deux sexes, la distinction entre un imago mâle et un imago femelle de l'espèce *Phlebotomus perniciosus* est principalement permise, à l'œil nu, par la forme de l'abdomen (fig. 1) [18,30,34,48]. En effet, ses segments terminaux se différencient pour former l'appareil génital externe et permettent ainsi le sexage : chez le mâle, l'extrémité de l'abdomen est recourbée vers le haut et poilue.

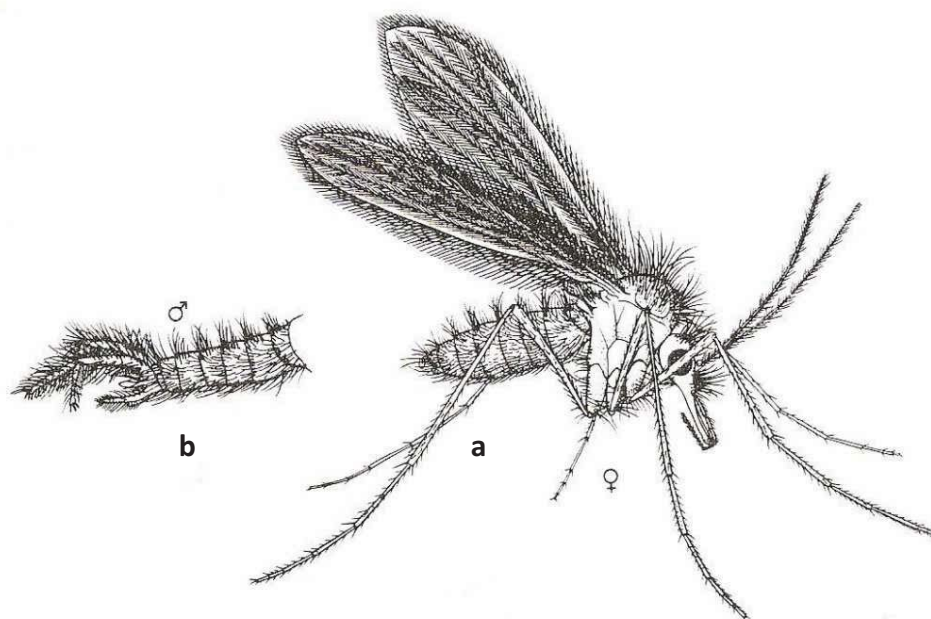


Figure 1 : Apparence typique d'un phlébotome adulte de l'espèce *Phlebotomus papatasi*
 (a) Imago femelle ; (b) Derniers segments abdominaux d'un imago mâle

Illustration issue de *Medical insects and arachnids*, R.P. Lane et R.W. Crosskey, 1993 [33]

3) Durée de vie des adultes

La durée de vie des phlébotomes adultes est conditionnée par la température et l'humidité du milieu [6,18,35]: un environnement frais et humide est favorable à leur longévité. Les mâles vivent moins longtemps que les femelles. Ces dernières ont une durée de vie allant de deux semaines à deux mois en moyenne [15,35,36,40,48].

Au cours de cette période, et bien que la majorité des femelles succombent lors de leur première ponte [6,18,30] ou des pontes suivantes, certaines femelles peuvent accomplir plusieurs cycles gonotrophiques.

4) Habitat

Les phlébotomes sont présents dans les zones du globe à climat tempéré à chaud [36,50]. Concernant l'espèce *Phlebotomus perniciosus*, elle est très répandue dans les régions méditerranéennes, notamment dans le sud de la France. Son abondance est fortement conditionnée par l'altitude, ainsi il est quasiment absent au-dessus de quelques centaines de mètres [35,44]. Cette espèce est capable de vivre dans des zones rurales, périurbaines ou urbaines [8,4752]. Cependant, sur un territoire donné, la densité en individus est variable et dépend :

- De facteurs climatiques tels que le vent, la température et de l'humidité [18,23,30,34,40,52]. En effet, ils sont très sensibles à la dessiccation et ces paramètres conditionnent donc les possibilités de survie et de reproduction. Ils préfèrent des zones peu ventées, abritées, humides et peu sensibles aux écarts de température comme des grottes, des crevasses de rochers, des éboulis, des creux d'arbres, des anfractuosités de vieux murs, des granges, des caves... [8,18,30,32,33,34,40,48]
- De facteurs environnementaux [52]. Les stades immatures se nourrissant à partir de débris organiques, il n'est pas rare de retrouver des phlébotomes à proximité de fumier ou d'amas d'humus [30,34,40,50]. Par ailleurs, le type de végétation semble jouer un rôle et, par exemple, les forêts de type chênaie mixte sont assez riches en phlébotomes [45].
- De facteurs relatifs à la disponibilité d'hôtes pour leur repas sanguin [52]. Les phlébotomes s'installent souvent dans les terriers de rongeurs, les étables, les écuries, les poulaillers... Cependant, bien que *Phlebotomus perniciosus* soit volontiers endophile [15,44], ce type de comportement s'exprime surtout à l'occasion du repas sanguin et les lieux de piqûre semblent différer des lieux de repos, plutôt situés hors des maisons d'habitations ou dans certaines de leurs parties peu fréquentées.

5) Activité

En raison de leurs exigences climatiques, l'activité des phlébotomes est centrée sur la période estivale en France [44,45]. La survie hivernale est assurée par les stades larvaires en diapause.

Cette activité est crépusculaire ou nocturne [15,18,32,33,40,45,50] : les phlébotomes, mâles comme femelles, commencent à s'agiter à la tombée du jour à condition que la température reste suffisamment élevée (19-20°C en moyenne) et qu'il n'y ait pas de vent (limite : 1-1,5m/s) [15,27,33,35,36]. Cependant, si le temps est nuageux et orageux, il est possible de les observer en journée [40]. Par ailleurs, certaines espèces dont *Phlebotomus perniciosus* sont attirées par la lumière artificielle, plutôt de faible intensité [18].

Le vol des phlébotomes est caractéristique : il s'agit d'un vol silencieux par petits bonds aériens de 1,50 à 2m, interrompu par de brèves périodes de repos [18,30,34,35,40,48]. Des études suggèrent que la vitesse maximale de ce vol soit légèrement inférieure à 1m/s [31]. L'altitude de vol est peu élevée : les phlébotomes ont tendance à voler horizontalement près du sol en zone dégagée [30,34,36]. La portée du vol est faible et les différents auteurs s'accordent à dire qu'elle est de quelques centaines de mètres tout au plus à proximité des hôtes, des gîtes de repos et de ponte [18,30,33,35,36,40,48,50], bien qu'il ait déjà été observé à titre exceptionnel une distance parcourue d'un peu plus de deux kilomètres [30,32,36]. Par ailleurs, les femelles gorgées seraient moins enclines à parcourir de longues distances [18,30]. Enfin, il apparaît que la pluie serait un facteur péjoratif pour le vol, de même qu'un vent d'une force supérieure à 1-1,5m/s, tout vol cessant à partir de 4-5m/s [18,33,34,40,48].

6) Reproduction et cycle évolutif

Selon les espèces, l'accouplement a lieu avant, pendant ou après le premier repas sanguin, que ce soit en vol ou à terre [30,32,40]. Il n'est pas rare que d'autres accouplements aient lieu lors de nouveaux cycles gonotrophiques [18,35].

La maturation des œufs se produit en même temps que la digestion du sang. L'oviposition est déterminée par des facteurs climatiques et environnementaux [22]. Au bout de 4 à 10 jours, les œufs sont pondus un à un, non agglomérés, par lots de quelques dizaines dans ou à proximité des lieux de repos au niveau de milieux humides mais non aqueux de type humus, fumier, terrier, sol à la base des arbres, creux d'arbres, anfractuosités de murs... [21,32,33,34,35,48]. Ces lieux offrent une température relativement constante, une protection contre la dessiccation et une proximité avec de la matière organique en décomposition.

Les œufs éclosent au bout de 10 jours en moyenne, la durée de l'embryogenèse étant fonction de la température [32,34,35,40,48]. Cependant, au sein d'un même lot, des œufs peuvent éclore plus tardivement avec jusqu'à plus de 30 jours de décalage. Enfin, les œufs peuvent être diapausiques dans des régions subissant une longue saison chaude ou sèche.

Les larves, terricoles saprophages et phytophages, sont vermiformes et évoluent sur les lieux de ponte [34,40,48]. Elles passent par quatre stades. Leur développement est dépendant des conditions climatiques [22,34], principalement de la température, et varie de deux semaines à 2 mois selon les espèces et la température [32,40]. En régions tempérées, les larves de type 4 peuvent entrer en diapause pendant la période hivernale [18,32,33,35,36,40,48]. Quant au stade nymphal, il dure généralement un peu plus d'une semaine [32,34,35,40].

Le développement total de l'œuf à l'adulte prend 20 à 60 jours, en l'absence de toute diapause [33,35,40,48].

Les mâles éclosent 24 à 48h avant les femelles mais ils ne sont sexuellement matures que 12 à 24h après, suite à une rotation de 180° de leur appareil génital externe [18,32,33,34,40].

II. Nutrition des phlébotomes

1) Régime alimentaire

Les phlébotomes, quel que soit leur sexe, se nourrissent de sucres floraux et fruitiers ainsi que de miellat de pucerons [30,32,33,34,35,40]. Ils peuvent également percer le parenchyme des feuilles et aspirer la sève [30,40,48]. Il a été montré que le fructose est le principal sucre recherché [35].

En plus de ces jus sucrés, les femelles prennent un à plusieurs repas sanguins par cycle gonotrophique selon leur espèce [6,32,34,36,48]. Cet apport protéique est souvent nécessaire à la production des œufs. En effet, les espèces autogènes (ovogenèse sans repas sanguin) sont rares et *Phlebotomus perniciosus* n'en fait pas partie. Les mâles ne piquent pas mais certains ont été observés se nourrissant de sang sur des plaies faites par les femelles [48].

Les femelles du genre *Phlebotomus* sont essentiellement mammophiles. Des analyses de contenus stomacaux ont montré qu'elles sont notamment capables de se nourrir à partir d'humains, de chiens, de chevaux, de bovins, d'ovins, de porcs, de rongeurs et même d'oiseaux [8,47,50]. Bien qu'elles soient volontiers anthropophiles, le choix de l'hôte dépend surtout de la présence d'animaux à proximité du lieu d'habitat, la disponibilité de l'hôte prime sur une réelle préférence trophique [6,8,40,47]. On parle de comportement opportuniste. De plus, si une femelle est dérangée au cours de son repas sanguin, elle a la possibilité de le compléter en repiquant ce même individu ou un autre hôte, qu'il soit ou non de la même espèce [18,35]. Cette particularité a été démontrée grâce à la présence de sang provenant de deux ou trois espèces d'hôtes différentes dans l'appareil digestif de mêmes femelles phlébotomes [8,47].

Les zones de piqûres préférentielles sont, chez l'Homme, les parties découvertes du corps (visage, cou, main, pied) [18,30,33,34,35,48] et, chez les animaux, les zones les moins velues (museau, oreilles, paupières) [18,35].

Il est probable que les phlébotomes détectent la présence d'un hôte grâce à leur odorat [18,33]. De plus, il semblerait que les femelles non gorgées puissent être attirées grâce à une

phéromone synthétisée au niveau des palpes des femelles en train de se gorger [33,34]. La recherche d'hôtes en vue du repas sanguin est stimulée par des conditions adéquates de température ambiante, d'humidité relative, d'intensité lumineuse et d'agitation de l'air [30,34,48].

Le repas sanguin se déroule sur quelques minutes et est facilement interrompu [18,27,35]. Selon les auteurs, la durée du repas est comprise entre 30 secondes et 15 minutes, bien qu'une durée moyenne inférieure à 5 minutes soit généralement admise [6,18,35,40].

Enfin, il a été remarqué que la majorité des imagos femelles obtenus en captivité ne commence à se gorger que 2 à 10 jours après l'éclosion, alors qu'un repas sucré est pris dès le premier jour de vie [18,34,35].

2) Description des pièces buccales

a. Chez la femelle

La trompe du phlébotome, ou proboscis, est formée par un labre, une paire de mandibules, une paire de maxilles, un hypopharynx et un labium. Cette trompe s'attache dorsalement au clypeus et ventralement au cibarium. De plus, elle est encadrée par les palpes maxillaires et les antennes (fig. 2).

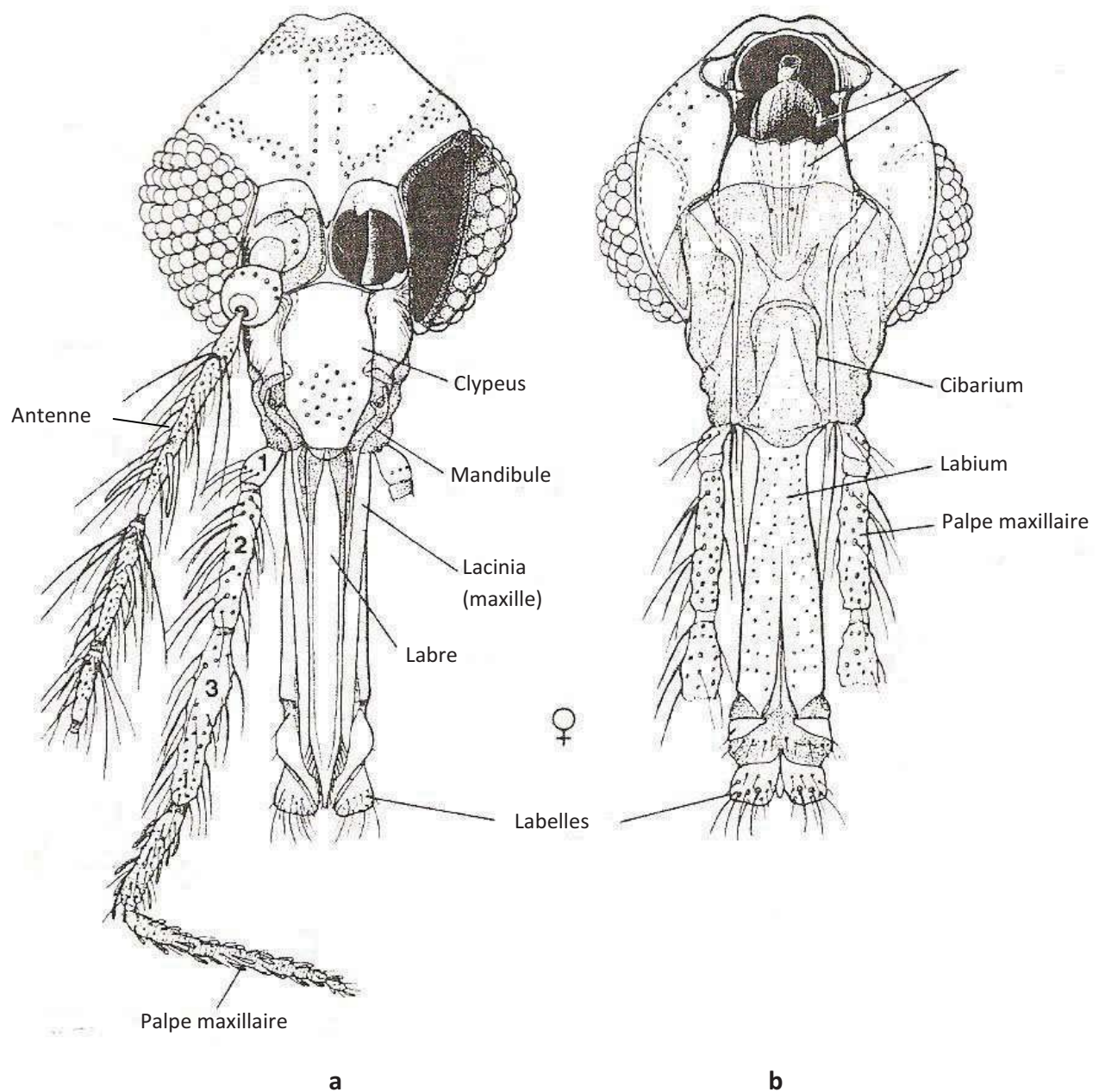


Figure 2 : Morphologie de la tête d'une femelle Phlebotomus papatasi

(a) Tête en vue de face avec œil gauche en partie supprimé et antenne gauche incomplète

(b) Tête en vue postérieure avec pharynx partiellement visible et palpes maxillaires incomplets

Illustration issue de *Medical insects and arachnids*, R.P. Lane et R.W. Crosskey, 1993 [33]

Le clypeus porte le labre-épipharynx qui constitue la lèvre supérieure et qui est creusé ventralement d'une gouttière parsemée de fossettes sensorielles. Au repos, on trouve dans cette gouttière labiale (fig. 3) [6,18,33,34,35,48] :

- Les deux mandibules : il s'agit de deux lames larges et pointues en forme de couteau disposées l'une au-dessous de l'autre. Leur extrémité distale est crénelée sur le bord interne. Elles sont recourbées et articulées à la base, formant ainsi un condyle bien visible sur la capsule céphalique.
- Les deux maxilles : ces lames, plus aiguës et plus épaisses que les mandibules, sont situées de part et d'autre de la gouttière labiale. Leur extrémité est denticulée sur les deux bords (plus profondément mais plus courtement sur le bord externe).
- L'hypopharynx qui est creusé du canal salivaire. Ce canal s'ouvre à son extrémité, par ailleurs découpée en dents de scie. De nombreuses sensilles sont présentes le long de l'hypopharynx.

La base ventrale de la gouttière est formée par le labium, lèvre inférieure repliée sur sa face dorsale et se terminant par deux appendices sensoriels mobiles bi-articulés appelés labelles.

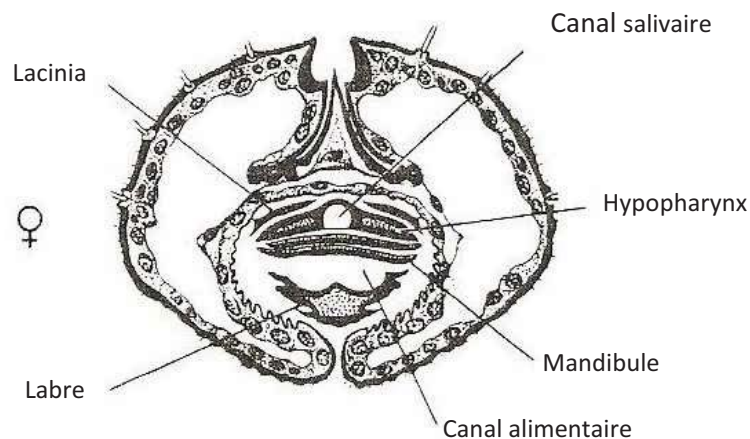


Figure 3 : Section en zone proximale du proboscis d'une femelle *Phlebotomus papatasi*

Illustration issue de *Medical insects and arachnids*, R.P. Lane et R.W. Crosskey, 1993 [33]

On appelle lacinia la partie à la base des maxilles. C'est cette structure qui assure la cohésion des mandibules, de l'hypopharynx et du labre ensemble grâce à une substance produite par une petite glande située à sa base [33].

Les palpes labiaux (fig. 4) comportent 5 articles dont les 2 premiers sont soudés. Ils sont recouverts d'écailles et de courtes soies. Le troisième segment, et parfois le second également, porte de petits poils regroupés en placards et appelés épines sensorielles de Newstead. Ces zones correspondent à des chémorécepteurs [18,33,35].

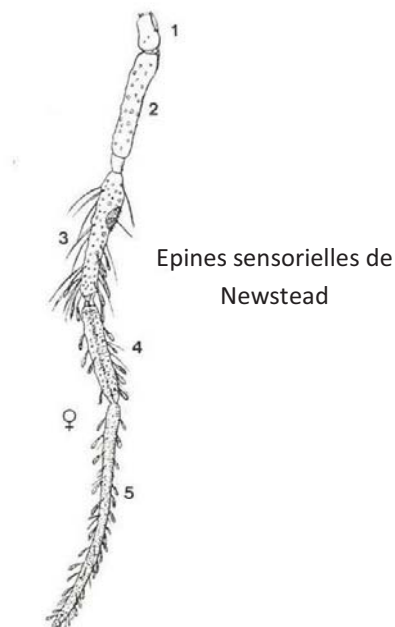


Figure 4 : Palpe maxillaire d'une femelle *Phlebotomus papatasi*

Illustration issue de *Medical insects and arachnids*, R.P. Lane et R.W. Crosskey, 1993 [33]

La cavité buccale ou cibarium est formée par l'accolement de l'extrémité proximale de l'épipharynx et de l'hypopharynx. Elle comporte notamment les muscles de la pompe salivaire et deux séries de dents dont les caractéristiques sont utilisées dans la diagnose des genres et des espèces.

b. Chez le mâle

La trompe est de même configuration que chez la femelle à l'exception que les mâles ne possèdent pas de mandibules [18,30,34] et que les autres pièces buccales sont plus fines et plus fragiles que chez la femelle [48].

3) **Déroulement du repas sanguin**

L'hématophagie pratiquée par les phlébotomes est dite telmophage car ils créent par lacération dans le derme un micro-hématome dont ils absorbent le contenu.

Lorsqu'une femelle phlébotome se pose sur un hôte potentiel, elle repère à l'aide de ses labelles un endroit favorable pour piquer [35]. Elle peut tester plusieurs zones, voire même s'envoler plusieurs fois avant de revenir vers l'hôte et de trouver le site adéquat où se nourrir [18,33,34]. Elle ancre alors ses maxilles dans l'épiderme grâce à leurs denticules puis dilacère la peau et sectionne les capillaires sanguins et lymphatiques grâce à un mouvement de ciseaux de ses mandibules [35,48]. Il se forme ainsi un lac hémolymphatique dans lequel elle injecte sa salive aux propriétés anticoagulantes et vasodilatatrices [28,34] par le biais de l'hypopharynx. Le sang est aspiré depuis ce petit hématome dans le canal formé par l'accolement du labre-épipharynx et des mandibules jusque dans le cibarium, avant d'être directement dirigé dans l'intestin [35]. Le labium sert de support et de guide à la trompe pendant le repas mais ne participe ni ne pénètre dans la plaie créée [6].

La profondeur de la piqûre du phlébotome serait d'environ la moitié de la longueur du proboscis de l'insecte, mesurant lui-même quelques dixièmes de millimètres (près de 0,35mm selon BERGMAN [6] et de 0,15 à 0,57mm d'après LANE [33]). Concernant la quantité de sang ingéré, BERGMAN [6] rapporte un volume inférieur à 0,5µL (soit environ 0,5mg) à chaque repas, de même que DOLMATOVA [18] qui parle de 0,4 à 0,5mg.

4) Composition de la salive

La salive des phlébotomes comporte un ensemble de substances dont la fonction première est d'éviter le phénomène d'hémostase au point de piqure. Certains composants salivaires ont des propriétés anticoagulantes, anti-agrégantes et vasodilatatrices pouvant être très importantes [28,48]. Cependant, la plupart de ces molécules sont immunogènes et induisent la production d'anticorps et/ou de réponses cellulaires pro-inflammatoires, ce qui a pour résultat une diminution de l'efficacité de la prise alimentaire [28,48]. De plus, certaines substances jouent un rôle dans la capacité de l'arthropode à transmettre des agents pathogènes en raison de leurs actions sur l'immunité, qu'elles soient immuno-modulatrices ou immuno-stimulatrices [28,48,51,54].

Ces sécrétions sont produites par deux glandes salivaires situées dans le thorax du phlébotome. Elles se déversent ensuite dans des conduits salivaires qui se réunissent en un seul canal excréteur s'ouvrant dans le canal hypopharyngien [28].

La composition exacte de la salive diffère selon les espèces.

III. *Phlebotomus perniciosus*, vecteur d'agents pathogènes

1) Vecteur de leishmanies

a. Définition de la leishmaniose

La leishmaniose est une maladie zoonotique commune à l'Homme et aux canidés. Elle est due au développement et à la multiplication dans les cellules du système des phagocytes mononucléés de parasites protozoaires du genre *Leishmania* transmis par la piqure d'un phlébotome.

b. Etiologie

Une leishmanie est un parasite intracellulaire du système réticuloendothélial des macrophages et des monocytes circulants. Ce parasite diphasique nécessite deux hôtes pour compléter son cycle évolutif : la forme intracellulaire amastigote évolue chez un hôte vertébré tandis que le phlébotome sera le vecteur biologique de la forme extracellulaire promastigote.

Il existe une spécificité zoologique relativement étroite au niveau du couple leishmanie-phlébotome. Concernant *Phlebotomus perniciosus*, il ne peut être vecteur que de l'espèce *Leishmania infantum*.

Les leishmanies sont ingérées par la femelle phlébotome lors d'un repas sanguin sur un hôte infesté. Les formes amastigotes présentes dans les macrophages se retrouvent en effet dans le lac hémolympatique créé par la lacération des tissus par les pièces buccales de l'insecte [5,15,35,48]. L'ensemble du repas sanguin arrive directement dans l'intestin où il se retrouve entouré d'une membrane chitineuse appelée membrane péritrophique. Au cours de la digestion, les cellules hôtes des leishmanies se rompent. Libres au sein de la membrane péritrophique, ces dernières se multiplient activement et deviennent des formes promastigotes [34]. Au bout de 3 à 4 jours, la membrane péritrophique se déchire à son tour et les parasites migrent vers l'intestin antérieur [15,29,34,35,48]. Grâce à un processus d'attachement à la paroi de l'intestin, les leishmanies ne sont pas éliminées lors de la défécation [32,34]. Suite à des différenciations successives et une forte multiplication, de nombreuses formes

promastigotes métacycliques infestantes sont produites au niveau du pharynx, du cibarium et du proboscis. Cet évènement coïncide avec la recherche d'un hôte pour un nouveau repas sanguin par le phlébotome [34]. Les parasites seront inoculés grâce à un phénomène de régurgitation active dans le derme de cet hôte [5,49]. L'hypothèse d'un blocage, d'une interférence avec la prise alimentaire due à la présence massive de parasites dans le pharynx du phlébotome est la plus probable [5,34]. De plus, en raison de cette gêne, le phlébotome infesté pourra être amené à piquer plusieurs fois afin avant de parvenir à se gorger complètement, ce phénomène augmentant le risque de transmission du parasite [5,28,32,49]. Chez le nouvel hôte vertébré, les leishmanies vont adhérer aux phagocytes mononucléaires présents dans le derme de sorte à subir une internalisation rapide afin de devenir des formes amastigotes protégées dans le phagolysosome [51]. Les macrophages infectés seront ensuite susceptibles de disséminer vers le nœud lymphatique, la rate, la moelle osseuse et le reste de l'organisme de l'hôte [50].

Une transmission *in utero* des leishmanies chez les phlébotomes a été envisagée par S.E. SHAW et M.J. DAY [51].

c. Epidémiologie

La leishmaniose est une maladie largement répandue : elle est présente en Afrique, au Moyen-Orient, en Asie, en Amérique Centrale et du Sud ainsi que sur le pourtour méditerranéen. Elle est considérée comme endémique dans 88 pays. L'Organisation Mondiale de la Santé estime à 2 millions le nombre de nouveaux cas humains par an avec environ 12 millions d'individus infectés dans le monde.

Seule la leishmaniose à *Leishmania infantum* est présente en France, avec *Phlebotomus perniciosus* et *Phlebotomus ariasi* comme vecteurs. Toute la frange méditerranéenne est considérée comme endémique/enzootique avec cinq foyers principaux : les Pyrénées-Orientales, les Cévennes, la Provence, la Côte d'Azur et la Corse [15,19,25,38,43].

Une des missions du Centre National de Référence des *Leishmania* (CNRL), créé en 1998 et basé à Montpellier, est de surveiller et d'enregistrer tous les cas de leishmaniose humains détectés en France. Ainsi, il recense chaque année depuis 1999 entre 18 et 35 cas humains autochtones en France métropolitaine [10].

Alors que les années 90 se sont singularisées par le début de recrudescence des cas de leishmaniose en raison de l'apparition de co-infections *Leishmania*/VIH, la tendance actuelle est à l'extension géographique de la maladie avec des cas signalés dans des zones auparavant non endémiques [17]. Des études sur le sujet ont par exemple montré une nette avancée de la zone d'endémie vers le nord de l'Italie, jusque là épargné, avec mise en évidence de cas autochtones et piégeage des vecteurs incriminés [7,24,37,39]. L'existence d'une zone d'endémie en Allemagne est même envisagée [41]. L'origine de ce phénomène d'extension de la leishmaniose, tant humaine que canine [19,25,38], tient aux bouleversements environnementaux, climatiques, économiques et démographiques survenant un peu partout sur le globe. L'urbanisation, la déforestation, le développement de l'irrigation, l'intensification du commerce international, les mouvements de population, le tourisme ou encore le changement climatique sont autant de facteurs ayant influé sur les interactions entretenues par les phlébotomes et les leishmanies avec leur milieu [13,17]. Ainsi, l'apparition de nouveaux territoires propices à leur survie et le développement d'activités humaines capables de les transporter passivement sur de longues distances ont contribué à la dispersion des phlébotomes et de ce fait concouru à l'établissement d'un cycle autochtone des *Leishmania* dans ces régions.

d. Espèces touchées

La leishmaniose touche habituellement les chiens, les canidés sauvages (renards, loups) et les hommes. Parmi ces derniers, les jeunes enfants, les patients séropositifs pour le VIH et les individus sous traitement immunosuppresseur sont les populations les plus à risques : plus de la moitié des cas affectant des adultes surviennent chez des individus immunodéprimés [46]. Les chats peuvent exceptionnellement être parasités en zone de forte endémie et présenter des signes cliniques [9,43,48,51].

Le réservoir de *Leishmania infantum* est classiquement constitué par les chiens leishmaniens, qu'ils soient malades ou cliniquement sains [15,51]. Des études dans les régions méditerranéennes enzootiques ont révélé, d'une part, des séroprévalences canines comprises entre 10% et 37% [51], ces chiffres pouvant aller jusqu'à près de 100% dans certaines zones [2] et, d'autre part, une prévalence de la leishmaniose canine clinique variant entre 2 et 10% en l'absence de toute prophylaxie [1,3]. Par ailleurs, il a été montré que le risque d'infection est dépendant de la présence de chien(s) porteur(s) dans le voisinage [14,42]. L'homme n'est

en général pas source de parasite car les leishmanies sont en région profonde, viscérale, à l'exception des cas d'individus atteints de leishmaniose cutanée et des patients immunodéprimés chez qui une présence massive de parasites dans le sang est souvent observable.

e. Symptômes

i. *La leishmaniose humaine*

Deux formes cliniques sont décrites lors d'infestation par *Leishmania infantum* : une forme viscérale et, plus rarement en Europe occidentale, une forme cutanée.

La forme viscérale est la forme la plus sévère. Elle résulte d'une diffusion dans l'organisme des parasites à partir du chancre d'inoculation. Il s'agit d'une maladie systémique chronique à l'origine d'épisodes fébriles, d'adénomégalie, d'hépatomégalie, de splénomégalie, d'atteinte des lignées sanguines, d'abattement et d'amaigrissement progressif [34,46,48]. La triade « fièvre irrégulière – anémie – splénomégalie » est bien décrite lors de leishmaniose viscérale classique du jeune enfant [46] tandis que la maladie revêt un caractère plus opportuniste chez les individus co-infectés par le VIH [46]. La forme clinique est quasi-systématiquement fatale sans traitement. Au cours des dix dernières années, le CNRL a relevé chaque année entre 14 et 31 cas autochtones de leishmaniose viscérale en France. Sur les 118 cas recensés entre 1999 et 2003, 40 % concernaient des sujets co-infectés par le VIH et 22 % des enfants de moins de six ans [46].

La forme cutanée se traduit par des lésions papuleuses, nodulaires ou ulcératives d'abord uniques puis extensives localement ou à distance [34,48]. Ces lésions peuvent être sujettes à des surinfections. La maladie est soit auto-limitante, soit elle évolue vers la chronicité [48]. La forme diffuse est résistante à tout traitement. Une issue fatale est possible et, lors de guérison, des cicatrices disgracieuses à défigurantes peuvent persister [34]. Entre 1999 et 2009, 21 cas de leishmaniose cutanée autochtone ont été déclarés au CNRL. Il est à noter que la particularité du foyer des Pyrénées Orientales est précisément l'existence d'une majorité de formes cutanées alors que dans les autres foyers français la forme viscérale domine [15,43].

ii. *La leishmaniose canine*

Chez le chien, la maladie est générale et protéiforme. Les symptômes peuvent être généraux (apathie, perte d'appétit, poly-adénomégalie, splénomégalie, anémie...) et cutanés (dépilations diffuses, furfure, ulcères...) [25]. Elle aboutit classiquement à une perte d'état général, une cachexie prononcée et une insuffisance rénale. L'évolution, lente, est généralement mortelle en l'absence de mise en place d'un traitement spécifique. Le pronostic est toujours sombre en raison d'une thérapeutique limitée et de l'aspect de santé publique.

2) Vecteur d'arbovirus

Les phlébotomes peuvent également être vecteurs de virus du genre *Phlebovirus* (famille des Bunyaviridae).

L'espèce *Phlebotomus perniciosus* est un vecteur reconnu du sérotype toscan ou « virus Toscana » [11,15,16]. Il s'agit du principal agent d'arbovirose transmis par les phlébotomes en France et la prévalence de l'infection est élevée sur le pourtour méditerranéen [4,16]. En relation avec la distribution du vecteur, les cas d'infection par ce virus sont centrés sur la période estivale [26]. Classiquement, les personnes atteintes développent un syndrome grippal aigu [16]. Ce syndrome fébrile non létal dure généralement 2 à 4 jours. Il est de résolution spontanément et se caractérise par des céphalées, de la fièvre, des malaises, des nausées, des myalgies et/ou des douleurs rétro-orbitaires ou dorsales [26]. Cependant, des cas de méningite et de méningo-encéphalites pouvant nécessiter une hospitalisation ont été décrits [4,16,26]. Le réservoir du virus semble être le vecteur lui-même [15,16]. Les phlébotomes s'infectent à partir d'hôtes vertébrés porteurs du virus.

Par ailleurs, le sérotype napolitain ou virus Naples a été isolé chez *Phlebotomus perniciosus* en Italie [16], où il est également suspecté d'être vecteur du sérotype sicilien [16]. A l'instar du virus Toscana, ces deux virus sont à l'origine de syndromes grippaux de résolution spontanée [16,48]. Ces syndromes sont communément appelés « fièvre des trois jours » ou encore « fièvre à papatasi », *Phlebotomus papatasi* en étant le principal vecteur connu [48]. Ils sont fréquents en période estivale autour du bassin méditerranéen [16]. Une encéphalite est possible avec le sérotype napolitain [48].

Enfin, le virus Massilia en France [12] et le virus Arbia en Italie [16] ont été identifiés chez *Phlebotomus perniciosus*. Bien qu'appartenant aussi au genre *Phlebovirus*, leur importance au regard de la santé publique est méconnue.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE DU REPAS

SANGUIN DE *PHLEBOTOMUS PERNICIOSUS*

I. Etude des sites préférentiels de gorgement de *Phlebotomus perniciosus* chez le chien

1. Objectifs

L'objectif de cette partie est de déterminer s'il existe des sites de piqûres préférentiels sur le chien pour *Phlebotomus perniciosus*.

2. Matériels et méthodes

a. Description des locaux d'expérimentation

Les expérimentations de ce travail de thèse ont été réalisées au sein du laboratoire Vecteurs Maladies Vectorielles au service de parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Les expériences proprement dites ont eu lieu dans une pièce spécifiquement dédiée à ce type d'activité. Ce local est exempt de toute contamination par des insecticides ou des répulsifs. La température, l'éclairage et l'humidité y sont contrôlées.

b. Description des populations étudiées

Origine des spécimens de *Phlebotomus perniciosus*

Les phlébotomes utilisés proviennent d'un élevage entretenu au sein du laboratoire. Ils sont issus d'une souche de *Phlebotomus perniciosus* provenant du Portugal. Les phlébotomes de cet élevage sont nourris au moyen d'un substrat nutritif glucosé *ad libitum* et, hors expérimentations, les femelles effectuent un repas sanguin sur lapin en vue de leur

reproduction. L'élevage est maintenu à une température proche de 20°C et dans des conditions d'humidité proche de 80%.

Les phlébotomes utilisés lors des expérimentations sont des femelles adultes âgées d'au minimum cinq jours.

Origine des chiens

Les chiens utilisés font tous partie du chenil du laboratoire. De race Beagle, ils sont issus d'élevages de laboratoire agréés. Le choix des individus tient compte de leur âge et de leur état de santé. Ils sont indemnes de tout insecticide ou répulsif.

c. Protocole expérimental

L'ambiance de la salle d'expérimentation est réglée sur une température de 27°C et une hygrométrie d'environ 55%. Les manipulations se déroulent dans la pénombre.

Le dispositif expérimental consiste en un filet rectangulaire (L 80cm x H 50cm x P 50cm) à mailles très fines fixé au sein d'un cadre de bois. Des ouvertures sont ménagées sur les côtés de ce cadre rigide. Le filet est muni de deux manchons :

- un manchon latéral d'une trentaine de centimètres de diamètre permettant de déposer le chien à l'intérieur du filet ;
- un manchon d'une quinzaine de centimètres de diamètre face à l'expérimentateur par où seront introduits les phlébotomes.

Le chien est anesthésié au moyen d'une association de diazépam, de kétamine et de dexmédétomidine injectée par voie intra-musculaire. Lorsque la narcose et la myorelaxation obtenues sont correctes, le chien est placé dans le dispositif expérimental en décubitus latéral.

Des phlébotomes sont introduits par petits groupes de 1 à 5 individus dans le filet. Leur transfert depuis leur cage d'élevage a lieu à l'intérieur d'un tube en verre relié à un tuyau en plastique dont l'extrémité peut être branchée sur une pompe aspirante. Un filtre permet d'isoler le compartiment délimité par la structure en verre du prolongateur plastique.

L'observation des phlébotomes permet de déterminer leurs sites de gorgement sur le chien, une femelle phlébotome gorgée étant reconnaissable à son abdomen distendu et rouge. Ces sites sont ensuite relevés sur une fiche d'observation (fig.5).



Photo 1 : Phlébotomes se gorgeant sur la face interne du pavillon auriculaire du chien



Photo 2 : Phlébotomes se gorgeant sur l'abdomen d'une chienne



Photos 3 et 4: Aspect macroscopique d'une femelle *Phlebotomus perniciosus* non gorgée (à gauche) et de femelles gorgées (à droite)



Photo 5: Aspect macroscopique d'une femelle *Phlebotomus perniciosus* gorgée

Illustration issue de *Co-circulation of 2 genotypes of Toscana Virus, Southeastern France*,
CHARREL R., 2007 [11]

Date :

Nombre de phlébotomes étudiés :

Nombre de phlébotomes gorgés :

Température :

Humidité :

Heure début observation :

Heure fin :

Zones préférentielles de gorgement :

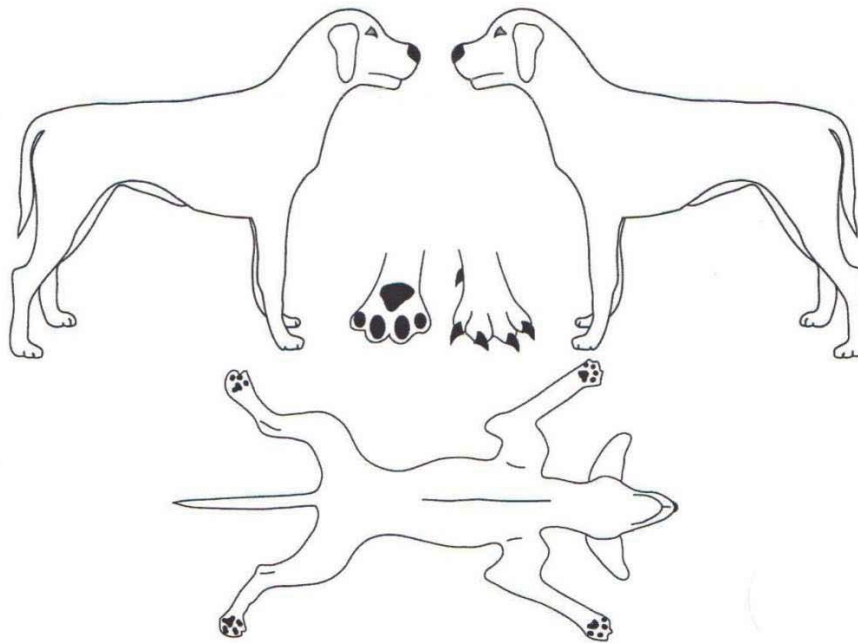


Figure 5 : Fiche d'observation des sites de gorgement des phlébotomes

3. Résultats et interprétation

En raison de la petite taille des phlébotomes, de leur couleur sombre, de zones de pelage foncées sur le corps des chiens utilisés ainsi que du manque de visibilité dû au filet et à la faible luminosité dans laquelle se déroulent ces manipulations, il est particulièrement difficile de suivre l'évolution de chaque insecte de façon continue au sein du filet. Cette étude s'est donc uniquement attachée à renseigner de façon qualitative la localisation des piqûres de *Phlebotomus perniciosus* sur les chiens.

Les observations ont portées sur une centaine de phlébotomes identifiés pendant leur repas sanguin sur les chiens.

Lorsque les insectes sont introduits dans le filet, ils volent au-dessus du chien et se posent généralement une à plusieurs fois avant de le piquer et de se gorger. Ces déplacements sont indépendants de toute perturbation extérieure (absence de mouvement du chien, de courant d'air...). L'attitude de la femelle phlébotome à chaque endroit où elle se pose montre qu'elle « sonde » cette zone, elle l'évalue à l'aide de ses labelles afin de déterminer s'il s'agit d'un endroit propice à son gorgement. Par ailleurs, une même femelle peut se gorger en une ou plusieurs fois, sur des sites proches ou éloignés sur le corps du chien.

Le temps d'exploration de l'environnement avant gorgement n'a pas été calculé en raison de la difficulté à suivre un même phlébotome depuis son entrée dans le filet jusqu'à son repas sanguin comme évoqué précédemment.

Il ressort de l'ensemble de ces observations que les phlébotomes se gorgent préférentiellement au niveau de :

- La face interne du pavillon auriculaire
- Les bords palpébraux
- La face ventrale de l'abdomen et les mamelles
- La face interne des cuisses
- L'extrémité du fourreau
- La vulve et la zone péri-vulvaire
- Le pourtour de l'anus.

Bien que ces localisations soient très largement majoritaires, elles ne sont pas exclusives et certains phlébotomes ont été vu se gorgeant sur les flancs, les côtés du thorax voire même sur la langue du chien.

4. Discussion

Ces observations semblent indiquer une préférence des phlébotomes pour effectuer leur repas sanguin dans des zones dépilées et à peau fine.

Cependant, cette hypothèse peut être discutée sur la base des arguments suivants :

- La visualisation délicate des phlébotomes posés au niveau des zones de pelage foncé du chien peut être à l'origine d'une sous-évaluation du nombre de phlébotomes gorgés sur ces zones, et par conséquent d'une surestimation relative du nombre de phlébotomes gorgés au niveau des zones de pelage claires ou dépilées.
- L'impossibilité d'observer les pérégrinations des phlébotomes dans le filet « par en-dessus » implique un moins bon suivi de ces derniers car l'expérimentateur doit en conséquence se déplacer autour du dispositif s'il ne veut pas perdre de vue les insectes passant « derrière » le chien. Une sous-évaluation du nombre de phlébotomes gorgés au niveau de la face dorsale du corps du chien (placé en décubitus latéral) est donc envisageable.

On pourra également se demander lequel des deux caractères « zone dépilée » ou « peau fine » a le plus d'influence sur le choix du site de piqûre par les phlébotomes. En effet, ces deux caractéristiques coïncident chez le Beagle pour l'ensemble des zones suscitées. Il serait par exemple intéressant de savoir si un chien de densité pileuse réduite (chien nu, alopécique...) serait autant piqué sur le dos que l'abdomen.

II. Etude du temps de gorgement de *Phlebotomus perniciosus*

1. Objectifs

L'objectif de cette étude est de déterminer la durée moyenne du repas sanguin de *Phlebotomus perniciosus* sur lapin.

Le choix de réaliser cette étude sur un lapin plutôt que sur un chien est motivé par les difficultés révélées lors de la phase précédente concernant la détermination des sites de gorgement. En effet, il y est apparu qu'il est difficile de suivre un phlébotome depuis sa mise dans le filet contenant le chien jusqu'à son gorgement complet et que l'observation des phlébotomes au niveau des zones de pelage foncé du chien est délicate. Or, pour cette étude, il existe certains pré-requis :

- La certitude que lorsqu'un phlébotome pique le chien qu'il s'agit bien de son premier repas sanguin et non d'un repas complémentaire ;
- La connaissance précise du nombre de repas sanguins effectués par un même phlébotome ;
- L'observation d'un repas sanguin depuis son commencement, vu avec précision.

Ces modalités pratiques ont donc conduit à préférer un lapin à un chien. De plus, seules les oreilles rasées de ce lapin sont mises au contact des phlébotomes.

2. Matériels et méthodes

a. Description des locaux d'expérimentation

La pièce d'expérimentation est la même que celle utilisée pour observer les sites de gorgement.

b. Description des populations étudiées

Origine des spécimens de *Phlebotomus perniciosus*

Les femelles phlébotomes utilisées proviennent du même élevage que décrit précédemment. Il s'agit d'adultes âgés d'au minimum cinq jours.

Origine du lapin

Le lapin utilisé est un de ceux servant habituellement à entretenir l'élevage. Il provient d'un élevage de laboratoire agréé. Il est blanc, indemne de tout insecticide ou répulsif, en bonne santé et ses oreilles sont rasées.

c. Protocole expérimental

Les conditions d'ambiance de la salle d'expérimentation sont calibrées de sorte à obtenir une hygrométrie de 60% et à se placer dans la pénombre. Une lampe de type lampe de bureau éclaire de façon indirecte le dispositif expérimental. En effet, des essais ont été menés sans aucune source de lumière additionnelle mais ils n'ont pas été concluants, la faible luminosité présente dans la salle ne permettant pas de déterminer avec précision le début et la fin du repas sanguin des phlébotomes.

Afin d'étudier une éventuelle influence de la température sur le temps de gorgement, la température de la salle d'expérimentation est modifiée entre deux séries de mesures. Elle est successivement ajustée sur 23°C, 25°C, 26°C et 29°C, un lot de mesures du temps de gorgement étant réalisé pour chacune de ces valeurs.

Le dispositif expérimental consiste en :

- Un filet de forme cubique de 17cm de côté à mailles très fines fixé sur une armature métallique de même forme. Un manchon d'une dizaine de centimètres de diamètre permet de placer les oreilles du lapin à l'intérieur du filet et également d'y introduire les phlébotomes.
- Une boîte de contention dans laquelle est placé le lapin. Ce dernier reste vigile pendant l'ensemble des manipulations. L'armature métallique du filet est posée sur la boîte de contention.

Des phlébotomes sont introduits par petits groupes d'environ 5 individus dans le filet. Leur transfert depuis leur cage d'élevage a lieu à l'intérieur d'un tube en verre décrit précédemment.

La mesure de la durée du repas sanguin débute lorsqu'un phlébotome insère ses pièces buccales dans la peau du lapin. L'expérimentateur déclenche alors un chronomètre qu'il ne stoppera que lorsque le phlébotome retirera ses pièces buccales. Le temps passé au point de piquûre avant la piquûre proprement dite ou après sa fin, c'est-à-dire si le phlébotome ne se déplace pas ou ne s'envole pas immédiatement, n'est pas pris en compte. Enfin, seuls sont retenus les temps considérés comme se rapportant à un gorgement complet ou principal, ce qui correspond aux situations suivantes :

- Le phlébotome observé n'a effectué qu'un seul repas sanguin pendant son séjour dans le filet ;
- Le phlébotome observé n'a procédé qu'à une seule autre piquûre avant la piquûre étudiée et il est resté moins de 3 secondes sur ce premier site.

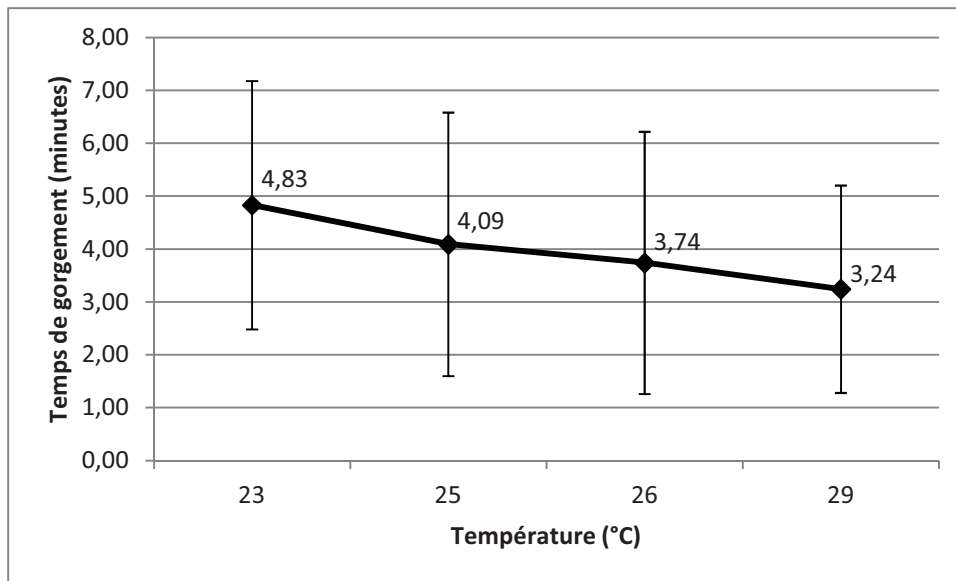
Toute autre configuration est éliminée des données recueillies.

3. Résultats et interprétation

Les résultats se présentent sous la forme de lots de durées de temps de gorgement (annexe B), chaque lot correspondant à une température d'ambiance différente. Les valeurs recueillies s'essaiment entre 1min38sec et 13min21sec. Après analyse de chacun de ces lots, un temps moyen de gorgement est calculé pour chaque température.

Température T (°C)	29	26	25	23
Nombre de mesures	30	14	21	30
Moyenne (minutes)	3,24	3,74	4,09	4,83
Intervalle de confiance (minutes)	[2,54 ; 3,94]	[2,44 ; 5,04]	[3,03 ; 5,16]	[3,99 ; 5,67]
Ecart-type (minutes)	1,96	2,48	2,49	2,35

Figure 6.: Mesures du temps de gorgement des femelles phlébotomes en environnement de température variable et d'humidité fixe (60%)



Graphique 1 : Temps moyen de gorgement (avec écart-type) des femelles phlébotomes en fonction de la température de l'environnement

a. Influence de la température

Pour déterminer si le temps de gorgement diffère de façon significative entre ces différents lots, on procède à un test de comparaisons multiples de Bonferroni. Cette méthode statistique conclut à une variation du temps moyen de gorgement en fonction de la température mais il ne permet pas d'identifier quelle(s) moyenne(s) diffère des autres. Une comparaison des moyennes deux à deux ne montre pas de différence significative entre les moyennes obtenues pour deux températures « adjacentes » mais elle permet de mettre en évidence une différence significative entre les deux moyennes les plus extrêmes, résultant des expérimentations à 29°C et 23°C.

Ces observations prouvent l'existence d'une variation du temps de gorgement en fonction de la température, dans la tranche thermique étudiée. Ce lien n'est cependant démontré que pour un écart de température d'au minimum 6°C.

b. Temps moyen de gorgement d'une femelle phlébotome dans la tranche thermique étudiée

Les 95 mesures de temps de gorgement réalisées dans cette étude, avec une température allant de 23°C à 29°C, conduisent à un temps de gorgement moyen de 4,01 minutes (4min01),

avec un écart-type de 2,34 minutes (2min20) et un intervalle de confiance à 95% de [3,53 ; 4,48] (soit [3min32 ; 4min29]).

4. Discussion

a. Influence de la température

La littérature ne fournit aucune donnée sur ce sujet précis et, bien que les résultats obtenus dans cette étude montrent une influence de la température sur le temps de gorgement de *Phlebotomus perniciosus* entre 23 et 29°C, une telle affirmation n'est pas généralisable. En effet, l'amplitude de la tranche thermique étudiée est restreinte à seulement 6°C avec des séries de données pour quatre températures uniquement. De plus, seule une des comparaisons deux à deux entre ces 4 moyennes de temps de gorgement a conclu à une différence significative. Toutefois, on peut raisonnablement supposer que plus l'écart thermique sera important, plus le temps moyen de gorgement variera. Cette extrapolation s'appuie à la fois sur l'allure de la courbe obtenue et sur le fait que seuls les deux temps moyens de gorgement correspondant aux températures les plus éloignées sont significativement différents. Une nouvelle étude multipliant le nombre de mesures par température donnée (dans l'espoir d'obtenir des écarts-types plus faibles) et concernant une tranche thermique plus large serait tout à fait intéressante dans cette optique.

b. Temps moyen de gorgement d'une femelle phlébotome

Le temps de gorgement moyen d'une femelle de l'espèce *Phlebotomus perniciosus* entre 23 et 26°C ainsi que la dispersion des valeurs obtenues dans cette étude sont compatibles avec les données issues de la littérature. En effet, pour toutes espèces de phlébotomes confondues, les auteurs [6,18,35,40] avancent des durées comprises entre 30 secondes et 5 minutes mais pouvant aller jusqu'à un quart d'heure. Cependant, le temps de gorgement étant susceptible d'être fonction de la température du milieu, la signification d'une valeur de temps de gorgement sans précision de cette température pourrait être critiquable.

III. Etude de l'influence du vent sur le comportement hématophage de *Phlebotomus perniciosus*

1. Objectifs

L'objectif de cette étude est de déterminer s'il y a inhibition de l'activité de gorgement des phlébotomes dans un environnement venté et, dans l'éventualité d'une telle inhibition, d'essayer de la corrélérer à la force du vent.

2. Matériels et méthodes

a. Description des locaux d'expérimentation

La pièce d'expérimentation est la même que celle utilisée pour les deux études précédentes.

b. Description des populations étudiées

Origine des spécimens de *Phlebotomus perniciosus*

Les femelles phlébotomes utilisées sont identiques à celles des manipulations précédentes.

Origine des chiens

Les chiens proviennent du chenil du laboratoire Vecteurs Maladies Vectorielles du service de parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Ils sont de race Beagle et issus d'élevages de laboratoire agréés. Les chiens choisis sont indemnes de tout insecticide ou répulsif et leur état de santé est correct.

Empiriquement, il s'avère que certains chiens attirent moins les phlébotomes que d'autres. Or, un pré-requis à cette étude est une attirance comparable des phlébotomes pour chaque chien utilisé, afin de s'affranchir au maximum de la variabilité inter-individuelle. Des essais

visant à valider les chiens sélectionnés ont donc été conduits. Pour cela, plusieurs chiens ont été testés dans des mêmes conditions de température et d'humidité et pour une vitesse de vent nulle, en suivant le protocole expérimental qui sera utilisé pour l'étude proprement dite (cf infra c.) N'ont été retenus que les chiens présentant des pourcentages de gorgement des femelles phlébotomes présentes dans leur filet supérieur à 60% après une heure de mise en présence. De grandes variabilités inter et intra-individuelle expliquent que ce critère ne soit pas plus précis. Concrètement, on suppose que les chiens pour lesquels ce pourcentage est inférieur à 60% ne sont pas assez attractifs pour les phlébotomes.

A l'issue de ces essais, six chiens, aléatoirement répartis en trois paires d'un mâle et d'une femelle, ont été sélectionnés pour cette étude. Chaque paire est restée identique pour l'ensemble des manipulations.

c. Protocole expérimental

Le dispositif expérimental est semblable à celui décrit pour l'observation des sites de gorgement des phlébotomes. Il comprend, par paire de chiens, deux filets rectangulaires fixés sur un support en bois.

La veille des expérimentations, une centaine de femelles phlébotomes est transférée des cages d'élevage dans chacun des filets. Une source nutritive glucosée *ad libitum* leur est accessible.

Le jour des expérimentations, la source nutritive est retirée du filet. La température et l'hygrométrie sont respectivement maintenues à 26°C et 60%. La salle est laissée dans la pénombre.

Des manipulations sont réalisées pour un courant d'air appliqué de 0.5m/s, 1m/s, 1.5m/s, 2m/s et 2.5m/s. Deux ventilateurs différents sont utilisés au cours de cette étude :

- Un petit ventilateur d'intérieur d'environ 25cm de diamètre permettant d'obtenir des vitesses de vent de 0.5 et 1m/s. Il est placé à environ 50cm du filet en position bloquée (pas de rotation autour de son axe vertical).

- Un gros ventilateur d'une cinquantaine de centimètres de diamètre permettant d'atteindre des vitesses de 1.5, 2 et 2.5m/s. Il est placé à environ un mètre du filet.

Le réglage de la position et de la puissance des ventilateurs est réalisé avant expérimentation grâce à un anémomètre. Ce dernier est fixé sur un support vertical, la cellule de mesure se retrouvant ainsi à la même hauteur que le corps du chien lors des manipulations.

L'anémomètre est placé successivement à 3 endroits : au centre du filet, dans la partie droite du filet et dans sa partie gauche. Cette précaution permet de régler plus précisément le ventilateur sur la force de vent souhaitée.

Au sein de chaque paire de chiens est déterminé :

- un « chien témoin » : il reste pendant une heure à l'intérieur d'un filet sans qu'aucun vent ne lui soit appliqué ;
- un « chien test » : il reste pendant une heure à l'intérieur d'un filet sur lequel le vent est appliqué.

Les chiens sont anesthésiés grâce à une association de diazépam, de kétamine et de dexmédétomidine injectée par voie intra-musculaire puis sont placés dans les filets, via le manchon latéral, en décubitus latéral.

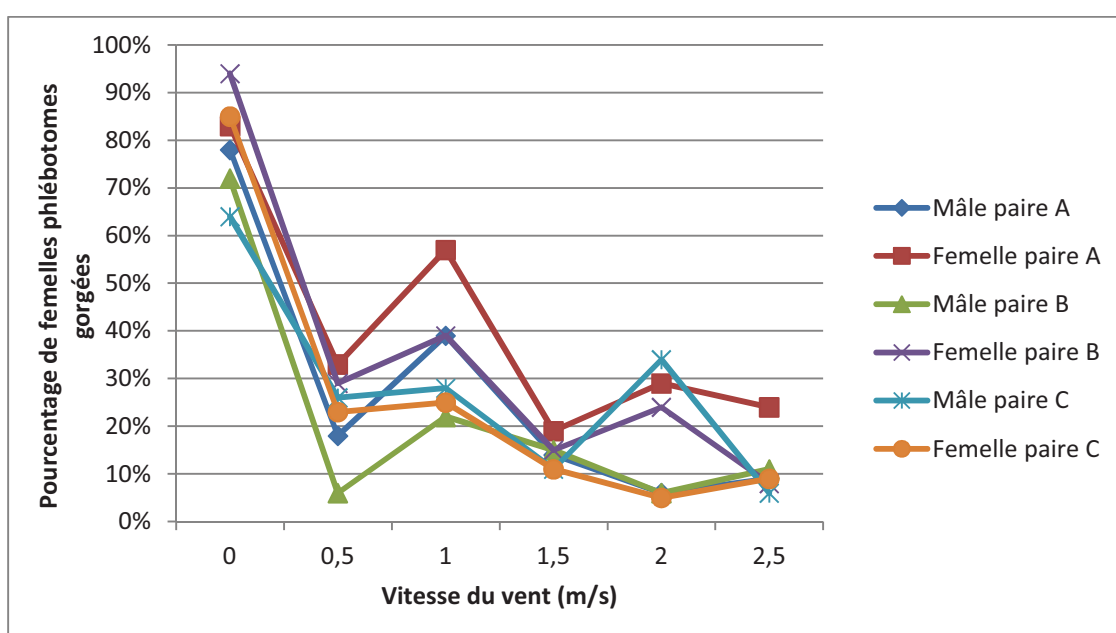
Au bout d'une heure, les chiens sont enlevés de leurs filets respectifs en prenant garde à laisser échapper le moins de phlébotomes possibles au cours de cette manœuvre. Les phlébotomes sont ensuite récoltés et comptés un à un pour chacun des filets. Le but est de déterminer combien de femelles sont gorgées et combien ne le sont pas.

On appelle « série de données » l'ensemble des résultats obtenus sur un même chien pour une force de vent de 0.5, 1, 1.5, 2 et 2.5m/s. Lorsqu'une telle série est entièrement recueillie, les qualités de « chien témoin » et de « chien test » au sein de la paire sont inversées et une nouvelle série de données est mesurée. Ainsi, cette étude comprenant trois paires de chiens, on aboutit à six séries de données.

3. Résultats et interprétation

a. Séries de données collectées pour chaque chien

Ces séries de données reflètent une inhibition du gorgement marquée dès 0,5m/s mais aucune inhibition complète n'est atteinte pour les vitesses de vent utilisées. De plus, quelque soit le chien, l'évolution ne semble pas proportionnelle à la force du vent.

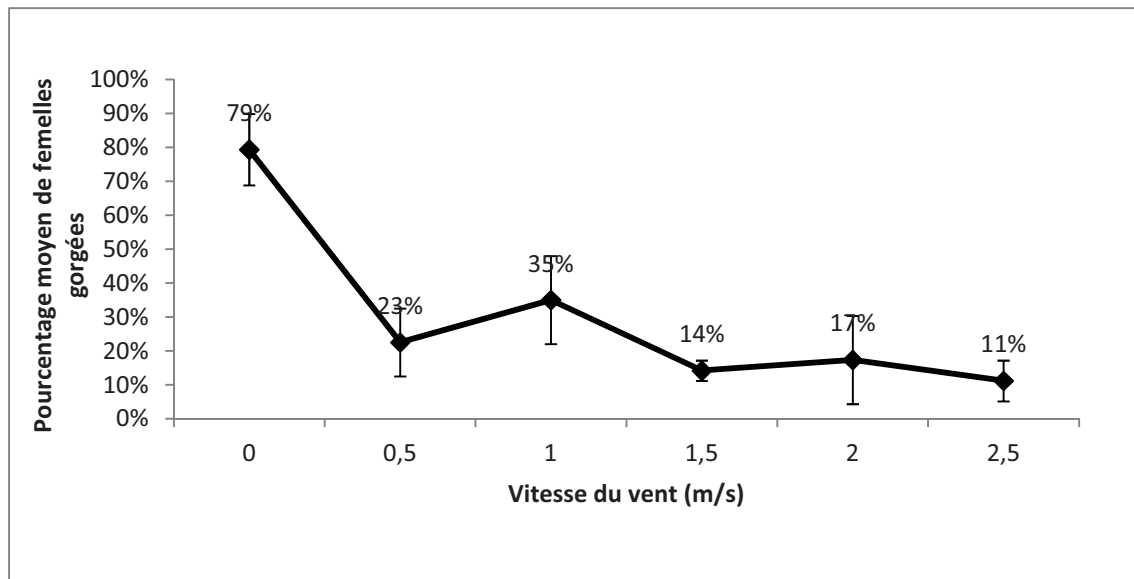


Graphique 2 : Pourcentage de femelles phlébotomes gorgées au bout d'une heure au contact d'un chien en fonction de la force du vent et du chien testé

b. Moyennes des données recueillies pour chaque vitesse de vent

Ces moyennes sont sujettes à des écarts-type relativement importants, à l'exception de la moyenne des mesures correspondant à une vitesse de 1,5m/s. Cependant, une forte inhibition de la propension des femelles phlébotomes à se gorger est visible pour toute brise d'au moins 0,5m/s. Le pourcentage moyen de femelles gorgées est inférieur d'au minimum 44% à sa valeur en l'absence de toute brise. Cette diminution atteint même 68% pour une brise de 2,5m/s.

L'évolution de ces moyennes de pourcentages de phlébotomes gorgés en fonction du vent ne suit pas un modèle simple (type diminution linéaire, exponentielle...).



Graphique 3 : Pourcentage moyen (avec écart-type) de femelles phlébotomes gorgées au bout d'une heure au contact d'un chien en fonction de la force du vent

Afin de déterminer les variations du pourcentage de gorgement imputables au facteur « animal » (variation inter-individuelle) et celles occasionnées par le facteur « vent », une analyse de la variance selon ces deux variables est réalisée. Elle révèle une influence significative des facteurs « animal » et « vent » sur les résultats obtenus. Ce test montre donc que les chiens sélectionnés n'étaient pas exactement « comparables », on ne peut pas considérer que l'ensemble des mesures de pourcentage de gorgement ont été faites avec un même chien fictif. D'autre part, bien que ce test mette en évidence une influence du vent sur le comportement hématophage des phlébotomes, les résultats obtenus lors de cette étude ne permettent pas de proposer un modèle de variation du pourcentage de femelles phlébotomes gorgées en fonction du vent.

4. Discussion

Diverses sources font état de l'influence du vent sur le comportement des phlébotomes dans la littérature [27,30,31,33,34,35,36,40,48,50,53]. Selon les auteurs, l'importance de l'inhibition du vol des phlébotomes occasionnée par la présence de vent est variable : pour certains, le moindre souffle suffit à stopper tout déplacement [40,48,50] ; pour d'autres, le vol n'est possible que si le vent est faible [30,53]. Des données plus précises sont avancées dans quelques publications. N. LEGER et J. DEPAQUIT [35] estiment que la vitesse limite du vent

serait de 1m/s. Au-dessus de cette valeur, aucun phlébotome ne pourrait se déplacer. Pour R.P. LANE [33], des vitesses de vent supérieures à 1,5m/s inhiberaient le vol mais il faudrait atteindre 4 à 5m/s pour que cette activité cesse totalement. A.V. DOLMATOVA et N.A. DEMINA [18] fixent cette limite à 3-4m/s. Enfin, à l'occasion d'une étude visant à déterminer la vitesse maximale en vol de *Phlebotomus ariasi*, R. KILLICK-KENDRICK [31] a montré que cette espèce n'est pas capable de se déplacer contre tout vent de face supérieur à 0,75m/s.

L'aptitude à se déplacer, et par conséquent à voler, est indispensable lors de la recherche d'un hôte pour le repas sanguin. Tout effet néfaste sur cette faculté aura donc des répercussions négatives sur la capacité à découvrir un hôte approprié et, par conséquent, sur la possibilité de se gorger pour les femelles phlébotomes. Une inhibition du taux de gorgement de ces femelles en présence de vent est donc en accord avec les données de la littérature. Par ailleurs, on peut s'attendre à ce que l'inhibition observée soit au moins aussi forte que pour le vol, c'est-à-dire que les valeurs limites de vitesse de vent soient égales voire inférieures à celles décrites dans la littérature pour l'inhibition du vol.

En accord avec ces considérations, un rôle significatif du vent sur le taux de femelles de phlébotomes gorgées en présence d'un chien est mis en évidence dans l'étude présente. Cette inhibition se manifeste de façon certaine dès 0,5m/s. Cependant, d'autres observations sont surprenantes. Contrairement aux affirmations de la plupart des auteurs, aucune inhibition complète ne peut être atteinte avec des vitesses de vent allant jusqu'à 2,5m/s. Seules les considérations de R.P. LANE [33] et A.V. DOLMATOVA et *al.* [18] ne s'opposent pas à ce constat. Certaines suppositions pourraient expliquer cet état de fait. Tout d'abord, les phlébotomes étant introduits dans le dispositif expérimental avant le chien, lorsque celui-ci est placé dans le filet, un certain nombre de femelles phlébotomes peuvent se retrouver « derrière » lui, le corps du chien faisant obstacle au vent dans cette zone. Ainsi on peut supposer que ces phlébotomes ne subiront pas l'influence inhibitrice du souffle d'air. Cependant, le nombre de femelles phlébotomes soustraites à l'action du vent par ce biais reste certainement faible : empiriquement la grande majorité des phlébotomes introduits dans le filet expérimental préfèrent se poser dans la partie haute du filet et une attention particulière a été portée au cours des expérimentations à éviter que des phlébotomes soient présents derrière le chien lorsque celui-ci est introduit dans le filet. De plus, les parties du corps du chien accessibles depuis cette zone s'avèrent être des régions peu adéquates aux piqûres d'après

l'étude sur les sites de gorgement préférentiels, et toute tentative pour voler vers des régions plus propices soumettra ces phlébotomes à l'action du ventilateur. Par ailleurs, il pourrait sembler envisageable qu'au lieu de voler vers le chien certaines femelles phlébotomes se soient déplacées contre le filet « en marchant » et aient ainsi pu atteindre l'hôte en dépit du souffle d'air appliqué au dispositif expérimental. Cependant, cette hypothèse est peu vraisemblable car, d'une part, ce comportement de « marche » ne semble absolument pas naturel chez les phlébotomes et, d'autre part, aucune manifestation de ce type n'a été remarquée lors des expérimentations. Ainsi, bien qu'il soit concevable que le nombre de femelles gorgées lors des expérimentations ait été positivement influencé, par comparaison avec une expérience qui aurait eu lieu en espace ouvert ou de taille importante, grâce à l'une ou l'autre de ces deux hypothèses, l'impact de ce biais apparaît plutôt faible.

Les résultats de cette étude sont également susceptibles d'avoir subis d'autres sources de biais. La principale résulte probablement de l'utilisation de ventilateurs et non de souffleries à flux laminaire. En effet, un ventilateur domestique génère un déplacement d'air selon un flux non laminaire, les vecteurs modélisateurs de ce flux ne sont pas identiques en tout point en aval de l'appareil. Lors des expérimentations, certaines dispositions du protocole expérimental visaient à minimiser l'impact de ce phénomène comme par exemple la distance entre le ventilateur et le filet ou encore le calibrage du ventilateur selon trois positions successives de l'anémomètre au sein du filet. Toutefois, il est possible que les femelles phlébotomes n'aient pas toutes perçu le souffle d'air selon un vecteur identique lors d'une même expérience et que cet aspect ait eu des répercussions sur les résultats obtenus.

Une seconde source de biais est liée à l'anémomètre. Le degré de précision de ce dernier est tel que, pour un même réglage du ventilateur et une même position de ces deux éléments, la valeur affichée par l'anémomètre varie constamment autour d'une certaine moyenne au cours du temps. Cette variation est d'environ 0,15m/s par rapport à la moyenne, avec des écarts allant jusqu'à 0,3m/s (évaluation qualitative basée sur l'expérience de l'expérimentateur). Le réglage du ventilateur doit donc se faire sur plusieurs minutes pour déterminer et ajuster cette moyenne à la valeur souhaitée, et un écart faible à cette valeur ne pourra pas être détecté entre deux positions successives de l'anémomètre dans le filet ou entre deux expérimentations à la même vitesse de vent théorique.

Enfin, une troisième source de biais peut être constituée par l'utilisation de femelles phlébotomes d'âge différent. En effet, toutes ces femelles sont choisies de sorte à être âgées d'au moins 5 jours mais l'âge exact de ces imagos peut ne pas être identique au sein d'une

même expérimentation ou entre deux expérimentations. L'éventuelle influence de ce facteur n'est pas connue.

CONCLUSION

Soumis à de profondes transformations environnementales, climatiques, économiques et démographiques, le milieu de vie de *Phlebotomus perniciosus* est actuellement en pleine évolution. De nouveaux territoires répondant aux exigences climatiques et écologiques de cette espèce sont colonisés. Cette dispersion du vecteur biologique qu'est *Phlebotomus perniciosus* pour la leishmaniose et certaines arboviroses n'est pas sans conséquence sur l'aire de répartition même de ces maladies et on assiste à leur extension géographique dans des zones jusqu'ici non endémiques. Dans ce contexte, il est probable que la connaissance approfondie des modalités de transmission de ces agents pathogènes revêtira un intérêt majeur dans la conception de stratégies de lutte adaptées à ces affections à l'importance croissante.

Notre travail s'est focalisé sur 3 aspects du repas sanguin de *Phlebotomus perniciosus* : sa localisation privilégiée sur le chien, sa durée et l'influence du vent sur cette activité.

L'étude des sites de gorgement sur le chien a montré une préférence, nette bien que non exclusive, pour les zones dépilées et à peau fine telles que la face interne du pavillon auriculaire, les bords palpébraux, la face ventrale de l'abdomen et les mamelles, la face interne des cuisses, l'extrémité du fourreau, le pourtour de l'anus, la vulve et la zone péri-vulvaire.

La détermination du temps moyen de gorgement de *Phlebotomus perniciosus* entre 23°C et 26°C a conduit à un résultat de 4min01 avec un écart-type de 2min20, un intervalle de confiance à 95% de [3min32 ; 4min29], une valeur minimale de 1min38 et une valeur maximale de 13min21. Cependant, les observations réalisées dans le cadre de ce travail prouvent l'existence d'une variation du temps de gorgement en fonction de la température. Une nouvelle étude associant un nombre de mesures de temps de gorgement par température donnée plus important et une tranche thermique étudiée plus large serait tout à fait indiquée pour connaître avec plus de précision cette interaction.

Enfin, une influence du vent sur la propension des femelles phlébotomes à se gorger a été mise en évidence. Dès 0,5m/s de brise, une inhibition marquée du pourcentage moyen de femelles gorgées au bout d'une heure se manifeste : ce pourcentage chute de 44% en passant de 79% (IC95 [71%-87%]) en l'absence de vent à 23% (IC95 [15%-31%]) en présence d'une brise de 0,5m/s. Cette inhibition reste forte pour des vitesses de vent allant jusqu'à 2,5m/s bien qu'une absence totale de gorgement ne puisse être atteinte. Tout en prenant garde aux sources de biais éventuelles citées dans notre étude (flux d'air non laminaire, âge des imagos...), il serait intéressant de réaliser de nouvelles observations avec des vitesses de vent supérieures à 2,5m/s afin de déterminer s'il existe une vitesse au-dessus de laquelle aucun phlébotome ne se gorge. D'autre part, aucune modélisation de l'influence du vent sur le pourcentage de femelles gorgées n'a pu être proposée suite à nos expérimentations. Une autre étude multipliant le nombre de mesures par vitesse de vent donnée et utilisant une source de vent à flux laminaire pourrait être envisagée afin de s'assurer de l'allure erratique de cette interaction.

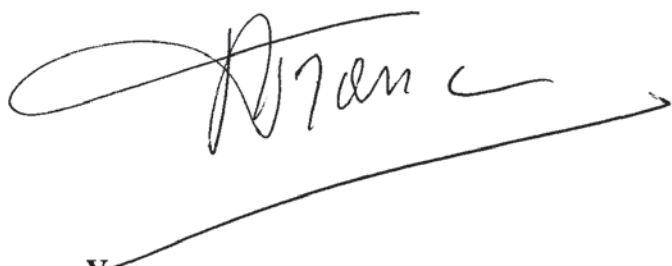
La confirmation d'une inhibition des piqûres de *Phlebotomus perniciosus* en présence d'une brise même légère peut, par exemple, être mise à profit en utilisant un ventilateur domestique comme moyen de diminuer le risque de transmission de pathogènes par les phlébotomes. Cette protection, bien que partielle, serait d'autant plus facile à mettre en place que l'activité du phlébotome est centrée sur la période estivale. On peut cependant se poser la question de la tolérance par le chien d'un tel dispositif. Il semble raisonnable de penser que son usage serait plutôt réserver à protéger les zones exposées, comme le visage et le cou, chez les hommes vivant en zones d'endémie.

AGREMENT SCIENTIFIQUE



En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **Michel FRANC**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **COLANGE Hélène** intitulée « *Contribution à l'étude du repas sanguin de Phlebotomus perniciosus (Diptera : Psychodidae)* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 13 Septembre 2011
Professeur **Michel FRANC**
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
Le Directeur de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Professeur **Alain MILON**



Vu :
Le Président du jury :
Professeur **Jean-François MAGNAVAL**



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier
Professeur **Gilles FOURTANIER**



Conformément à l'Arrêté du 20 avril 2007, article 6, la soutenance de la thèse ne peut être autorisée qu'après validation de l'année d'approfondissement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ALVAR, J., CANAVATE, C., MOLINA R. et al.**
Canine leishmaniasis
Advances in Parasitology, 2004, **57**, 1-88
2. **ALONSO, F., GIMENEZ FONT, P., MANCHON, M. et al.**
Geographical variation and factors associated to seroprevalence of canine leishmaniosis in an endemic Mediterranean area
Zoonoses and Public Health, 2010, **57**, 318-28
3. **AOUN, O., MARY, C., ROQUEPLO, C. et al.**
Canine leishmaniasis in south-east of France: screening of *Leishmania infantum* antibodies (western blotting, ELISA) and parasitaemia levels by PCR quantification
Veterinary Parasitology, 2009, **166**, 27-31
4. **BAHRI, O., FAZAA, O., BEN ALAYA-BOUAFIF, N. et al.**
Rôle du virus Toscana dans les infections neuroméningées en Tunisie
Pathologie Biologie, 2010, doi:10.1016/j.patbio.2010.01.003
5. **BATES, P.A.**
Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies
International Journal of Parasitology, 2007, **37**, 1097-1106
6. **BERGMAN, D.K.**
Mouthparts and feeding mechanisms of haematophagous arthropods
In: WIKEL, S.K., The immunology of host-ectoparasitic arthropod relationships, CAB International, Wallingford, 1996, 38-45
7. **BIGLINO, A., BOLLA, C., CONCIALDI, E. et al.**
Asymptomatic *Leishmania infantum* infection in an area of northwestern Italy (Piemont region) where such infections are traditionally nonendemic
Journal of clinical microbiology, January 2010, **48(1)**, 131-136

8. **BONGIORNO, G., HABLUETZEL, A., KHOURY, C. et al.**
Host preferences of phlebotomine sand flies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy
Acta Tropica, 2003, **88**, 109-116
9. **BOURDOISEAU, G.**
Leishmaniose féline : actualités
Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie, 2011, **46**, 23-26
10. **Centre National de Référence des *Leishmania*** (page consultée le 1^{er} septembre 2011)
Site du laboratoire de Parasitologie de l'Université de Montpellier I [en ligne]
Rapports d'activité de 2001 à 2009
Adresse URL : <http://www.parasitologie.univ-montp1.fr/cnrl4.htm>
11. **CHARREL, R.N., IZRI, A., TEMMAN, S. et al.**
Cocirculation of 2 genotypes of Toscana Virus, Southeastern France
Emerging Infectious Diseases, March 2007, **13(3)**, 465-468
12. **CHARREL, R.N., MOUREAU, G., TEMMAN, S. et al.**
Massilia virus, a novel *Phlebovirus* (*Bunyaviridae*) isolated from sandflies in the Mediterranean
Vector-borne and zoonotic diseases, 2009, **9(5)**, 519-530
13. **COLWELL, D. D., DANTAS-TORRES, F., OTRANTO, D.**
Vector-borne parasitic zoonoses: emerging scenarios and new perspectives
Veterinary Parasitology, 2011, doi:10.1016/j.vetpar.2011.07.012
14. **COSTA, C.H.N., PEREIRA, H.F., PEREIRA, F.C.A. et al.**
Is the household dog a risk factor for American visceral leishmaniasis in Brazil?
Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1999, **93**, 464
15. **DEPAQUIT, J.**
Phlébotomes et leishmanioses
Epidémiologie et Santé Animale, 2008, **54**, 43-53

16. **DEPAQUIT, J., GRANDADAM, M., FOUQUE, F. et al.**
Arthropod-borne viruses transmitted by phlebotomine sandflies in Europe: a review
Euro Surveillance, 11 March 2010, **15(10)**, 19507
Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19507>
17. **DESJEUX, P.**
The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide
Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2001, **95**, 239-243
18. **DOLMATOVA, A.V., DEMINA, N.A.**
Les phlébotomes (Phlebotominae) et les maladies qu'ils transmettent
Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre Mer (ORSTOM), 1971, 168p
19. **DURPOIX, D.**
Etude épidémiologique de la leishmaniose canine dans le Sud de la France: techniques diagnostiques, prophylaxie et définition de la zone d'enzootie – Influence des facteurs environnementaux
Lyon, thèse de doctorat vétérinaire, 2008, 124p.
20. **EUZEBY, J.**
Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire
Lavoisier, Tec et Doc, Editions médicales internationales (EMinter), Paris, 2008, 585-586
21. **FELICIANGELI, M.D.**
Natural breeding places of phlebotomine sandflies
Medical and Veterinary Entomology, 2004, **18**, 71-80
22. **GALVEZ, R., DESCALZO, M.A., MIRO, G. et al.**
Seasonal trends and spatial relations between environmental/meteorological factors and leishmaniosis sand fly vector abundances in Central Spain
Acta Tropica, 2010, **115**, 95-102

23. **GHOSH, K., MUKHOPADHYAY, J., DESAI, M.M. et al.**
Population ecology of *Phlebotomus argentipes* (Diptera: Psychodidae) in West Bengal, India
Journal of Medical Entomology, September 1999, **36(5)**, 588-594
24. **GRAMICCIA, M., GRADONI, L.**
The current status of the zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control
International Journal of Parasitology, 2005, **35**, 1169-1180
25. **HALLOIN, E.**
Etude épidémiologique de la symptomatologie de la leishmaniose canine dans le Sud de la France et de l'influence des facteurs environnementaux
Lyon, thèse de doctorat vétérinaire, 2008, 128p.
26. **HEMMERSBACH-MILLER, M., PAROLA, P., CHARREL, R.N. et al.**
Sandfly fever due to Toscana virus: an emerging infection in southern France
European Journal of Internal Medicine, 2004, **15**, 316-317
27. **HOOGSTRAAL, H., DIETLEIN, D.R., HEYNEMAN, D.**
Leishmaniasis in the Sudan Republic: 4. Preliminary observations on man-biting sandflies (Psychodidae: Phlebotomus) in certain upper Nile endemic areas
Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, September 1962, **56(5)**, 411-422
28. **KAMHAWI, S.**
The biological and immunomodulatory properties of sand fly saliva and its role in the establishment of *Leishmania* infections
Microbes and Infection, 2000, **2**, 1765-1773
29. **KAMHAWI, S.**
Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes?
Trends in Parasitology, 2006, **22(9)**, 439-445

30. **KETTLE, D.S.**
Medical and Veterinary Entomology - Second Edition
CAB International, Wallingford, 1995, 177-191
31. **KILLICK-KENDRICK, R., WILKES, T.J., BAILLY, M. et al.**
Preliminary field observations on the flight speed of phlebotomine sandfly
Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1986, **80**, 138-142
32. **KILLICK-KENDRICK, R.**
The biology and control of phlebotomine sand flies
Clinics in Dermatology, 1999, **17**, 279-289
33. **LANE, R.P., CROSSKEY, R.W.**
Medical Insects and Arachnids
Springer, Editions Chapman & Hall, 1993, 78-119
34. **LAWYER, P.G., PERKINS, P.V.**
Leishmaniasis and trypanosomiasis
In: Medical Entomology – A textbook on public health and veterinary problems caused by arthropods, ELDRIDGE, B.F., EDMAN, J.D., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2000, 231-298
35. **LEGER, N., DEPAQUIT, J.**
Les phlébotomes
In: Les leishmanioses, coordinateur J.-P. DEDET, Editions Ellipses, Collection Universités Francophones, Paris, 1999, 89-109
36. **LEWIS, D.J.**
Phlebotomid sandflies
Bulletin of World Health Organisation, 1971, **44**, 535-551

37. **MAROLI, M., ROSSI, L., BALDELLI, R. et al.**
The northward spread of leishmaniasis in Italy: evidence from retrospective and ongoing studies on the canine reservoir and phlebotomine vectors
Tropical Medicine and International Health, February 2008, **13(2)**, 256-264
38. **MEUNIER, A.**
Etude épidémiologique de la leishmaniose canine et de l'influence des facteurs environnementaux (en France depuis 1965, dans le Sud-Ouest en 2006)
Lyon, thèse de doctorat vétérinaire, 2007, 106p.
39. **MOROSSETTI, G., BONGIORNO, G., BERAN, B. et al.**
Risk assessment for canine leishmaniasis spreading in the north of Italy
Geospatial Health, 2009, **4(1)**, 115-127
40. **MOULINIER, C.**
Parasitologie et mycologie médicales – Eléments de morphologie et de biologie
Lavoisier, Editions médicales internationales (EMinter), Paris, 2003
41. **NAUCKE, T.J., SCHMITT, C.**
Is leishmaniasis becoming endemic in Germany?
International Journal of Medical Microbiology Supplements, 2004, **293**, suppl.37, 179-181
42. **OLIVEIRA, C.D., ASSUNCAO, R.M., REIS, I.A. et al.**
Spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brasil, 1994-1997
Cadernos de saúde pública, Sept-Oct. 2001, **17(5)**, 1231-1239
43. **PRATLONG, F., RIOUX, J.A., MARTY, P. et al.**
Isoenzymatic analysis of 712 Strains of *Leishmania infantum* in the South of France and relationship of enzymatic polymorphism to clinical and epidemiological features
Journal of Clinical Microbiology, September 2004, **42(9)**, 4077–4082

44. **RIOUX, J.A., GOLVAN, Y.J., CROSET, H. et al.**
Ecology of leishmaniasis in Southern France – 1. Phlebotomus. Sampling-ethology
Annales de parasitologie humaine et comparée, Nov-Dec. 1967, **42 (6)**, 561-603
45. **RIOUX, J.A., GOLVAN, Y.J.**
Epidémiologie des leishmanioses dans le sud de la France
INSERM, Paris, 1969, 223p
46. **ROSENTHAL, E., MARTY, P.**
Actualités sur la leishmaniose viscérale méditerranéenne
La Revue de Médecine Interne, 2009, **30**, S24-S28
47. **ROSSI, E., BONGIORNO, G., CIOLLI, E. et al.**
Seasonal phenology, host-food feeding preferences and natural *Leishmania* infection of
Phlebotomus perniciosus (Diptera, Psychodidae) in a high-endemic focus of canine
leishmaniasis in Rome province, Italy
Acta Tropica, 2008, **105**, 158-165
48. **RUTLEDGE, L.C., GUPTA, R.K.**
Moth flies and sand flies (Psychodidae)
In: Medical and veterinary entomology – Second Edition, MULLEN, G.R., DURDEN,
L.A., Elsevier, Amsterdam, 2009, 153-168
49. **SCHLEIN, Y., JACOBSON, R.L., MESSER, G.**
Leishmania infections damage the feeding mechanism of the sandfly vector and
implement parasite transmission by bite
Microbiology, October 1992, **89**, 9944-9948
50. **SHARMA, U., SINGH, S.**
Insect vectors of *Leishmania*: distribution, physiology and their control
Journal of Vector Borne Diseases, December 2008, **45**, 255-272

51. SHAW, S.E., DAY, M.J.

Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat

Manson Publishing, Londres, 2005, 152p

52. TARALLO, V.D., DANTAS-TORRES, F., LIA, R.P. et al.

Phlebotomine sand fly population dynamics in a leishmaniasis endemic peri-urban area in southern Italy

Acta Tropica, 2010, **116**, 227-234

53. WALL, R., SHEARER, D.

Veterinary ectoparasites – Biology, pathology and control – Second edition

Blackwell Science, Oxford, 2001, 262p

54. ZER, R., YAROSLAVSKI, I., ROSEN, L. et al.

Effect of sand fly saliva on *Leishmania* uptake by murine macrophages

International Journal for Parasitology, 2001, **31**, 810-814

ANNEXE A

Etude des sites préférentiels de gorgement sur le chien de *Phlebotomus perniciosus*

Thèse : GORGEMENT PHLEBOTOMES

Date : 19/11/2009

Nombre de phlébotomes étudiés : 50

Nombre de phlébotomes gorgés :

Température : 27°C

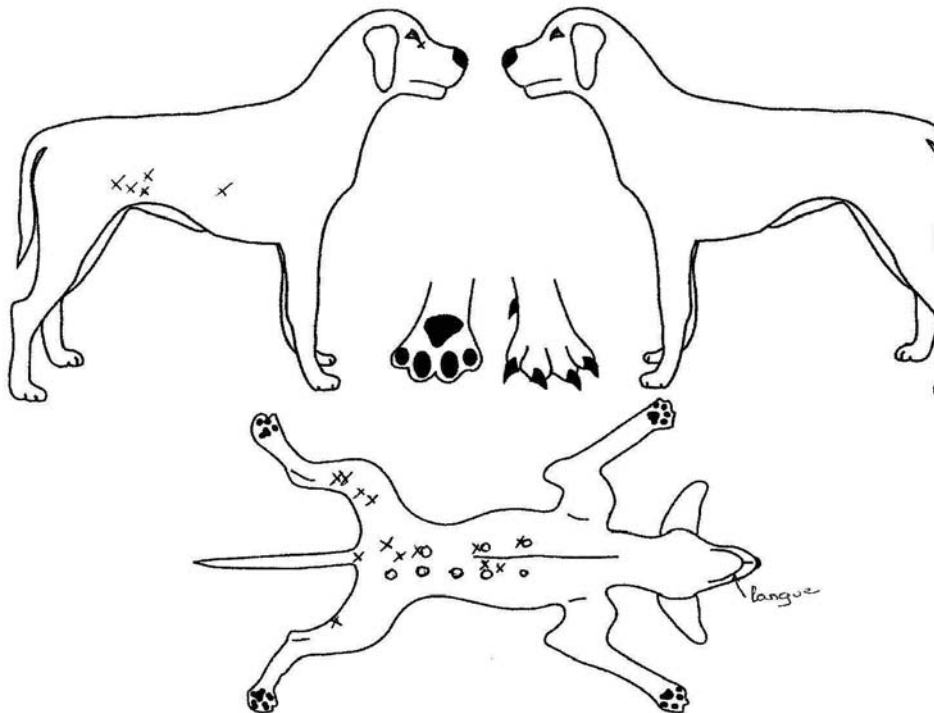
Humidité : 55%

Heure début observation : 9^h40

Heure fin : 11^h10

Zones préférentielles de gorgement :

bord palpébral
abdomen
mamelles
flanc
face interne des cuisses
langue
zone péri-anale



x : site de gorgement d'une ou plusieurs femelles
o : mamelle ayant été un site de gorgement pour une ou plusieurs femelles

Thèse : GORGEMENT PHLEBOTOMES

Date : 20/11/2009

Nombre de phlébotomes étudiés : 87 femelles Nombre de phlébotomes gorgés : 47

Température : 27°C

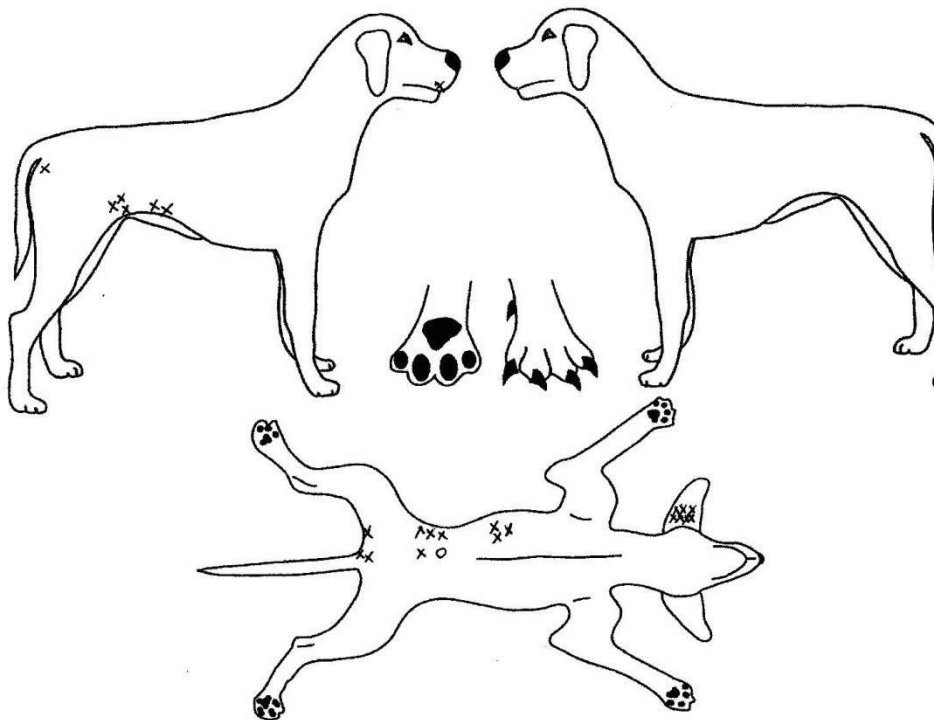
Humidité : 55%

Heure début observation : 10^h14

Heure fin : 10^h44

Zones préférentielles de gorgement :

- face interne des oreilles
- planc
- abdomen
- vulve et zone périvulvaire
- babine



Thèse : GORGEMENT PHLEBOTOMES

Date : 24/11/03

Nombre de phlébotomes étudiés :

Nombre de phlébotomes gorgés :

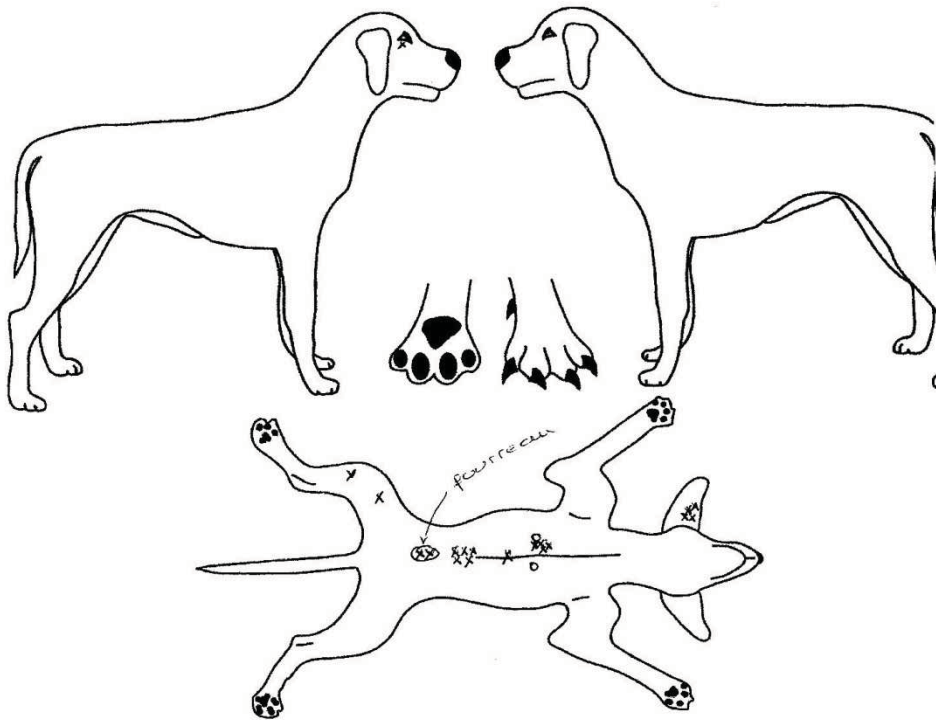
Température : 27 °C

Humidité : 55 %

Heure début observation : 10^h06

Heure fin : 11^h06

Zones préférentielles de gorgement : abdomen, ombilic
face interne des cuisses
extrémité du fourreau
face interne des pavillon auriculaire
bord palpébral.



ANNEXE B

Etude du temps de gorgement de *Phlebotomus perniciosus*

Température d'ambiance	23°C	25°C	26°C	29°C
Mesures du temps de gorgement	3'54'' 3'52'' 3'09'' 2'18'' 7'39'' 7'07'' 5'57'' 3'07'' 3'19'' 3'02'' 4'20'' 4'17'' 5'53'' 5'33'' 8'03'' 3'22'' 6'45'' 4'31'' 8'29'' 2'23'' 5'02'' 10'15'' 4'55'' 10'26'' 4'25'' 2'06'' 1'56'' 3'33'' 2'14'' 3'04''	4'35'' 2'21'' 4'01'' 5'18'' 6'28'' 4'12'' 2'55'' 2'54'' 4'54'' 3'10'' 3'02'' 3'14'' 3'56'' 2'04'' 1'38'' 3'48'' 6'13'' 2'12'' 3'14'' 13'21'' 2'25''	2'15'' 1'48'' 11'00'' 5'46'' 2'32'' 1'53'' 3'10'' 4'28'' 5'50'' 3'29'' 2'45'' 2'12'' 3'21'' 1'53''	2'46'' 3'46'' 2'27'' 5'48'' 1'56'' 2'30'' 1'56'' 3'07'' 3'33'' 2'59'' 5'28'' 2'23'' 5'06'' 2'48'' 2'56'' 3'37'' 1'57'' 2'13'' 2'00'' 2'56'' 1'59'' 1'49'' 1'39'' 2'41'' 2'16'' 3'27'' 3'06'' 12'05'' 2'59'' 3'05''
Nombre de mesures	30	21	14	30
Moyenne arithmétique	4'50''	4'05''	3'44''	3'15''

ANNEXE C

Etude de l'influence du vent sur le comportement hématophage de *Phlebotomus perniciosus*

Paire A :

Vitesse du vent (m/s)	0	0,5	1	1,5	2	2,5
Température (°C)	27	27	27	29	27	28
Humidité (%)	60	60	58	62	62	65
CHIEN TESTE : mâle A						
Nombre de femelles gorgées	75	19	38	11	6	8
Nombre de femelles non gorgées	21	89	60	70	94	78
Nombre de mâles	1	19	3	1	7	12
% phlébotomes gorgées sur chien testé	78%	18%	39%	14%	6%	9%
CHIEN TEMOIN : femelle A						
Nombre de femelles gorgées	81	51	93	89	73	71
Nombre de femelles non gorgées	17	47	15	8	27	9
Nombre de mâles	5	11	3	4	11	6
% phlébotomes gorgées sur chien témoin	83%	52%	86%	92%	73%	89%

Paire A :

Vitesse du vent (m/s)	0	0,5	1	1,5	2	2,5
Température	27	30	26	26	27	27
Humidité	60	63	56	55	57	60
CHIEN TESTE : femelle A						
Nombre de femelles gorgées	81	40	65	18	29	24
Nombre de femelles non gorgées	17	81	49	75	71	74
Nombre de mâles	5	12	12	17	17	13
% phlébotomes gorgées sur chien testé	83%	33%	57%	19%	29%	24%
CHIEN TEMOIN : mâle A						
Nombre de femelles gorgées	75	104	89	72	76	73
Nombre de femelles non gorgées	21	16	20	19	38	22
Nombre de mâles	1	11	12	7	36	17
% phlébotomes gorgées sur chien témoin	78%	87%	82%	79%	67%	77%

Paire B :

Vitesse du vent (m/s)	0	0,5	1	1,5	2	2,5
Température	27	27	28	29	27	27
Humidité	60	60	60	57	58	58
CHIEN TESTE : mâle B						
Nombre de femelles gorgées	52	7	22	14	6	12
Nombre de femelles non gorgées	20	101	80	79	87	100
Nombre de mâles	3	16	11	2	4	5
% phlébotomes gorgées sur chien testé	72%	6%	22%	15%	6%	11%
CHIEN TEMOIN : femelle B						
Nombre de femelles gorgées	77	103	102	92	86	81
Nombre de femelles non gorgées	5	13	3	16	23	14
Nombre de mâles	4	13	2	3	11	95
% phlébotomes gorgées sur chien témoin	94%	89%	97%	85%	79%	85%

Paire B :

Vitesse du vent (m/s)	0	0,5	1	1,5	2	2,5
Température	27	28	29	26	25	26
Humidité	60	62	55	55	58	57
CHIEN TESTE : femelle B						
Nombre de femelles gorgées	77	33	40	15	26	8
Nombre de femelles non gorgées	5	79	62	88	82	88
Nombre de mâles	4	31	5	5	24	36
% phlébotomes gorgées sur chien testé	94%	29%	39%	15%	24%	8%
CHIEN TEMOIN : mâle B						
Nombre de femelles gorgées	52	103	87	56	63	68
Nombre de femelles non gorgées	20	18	24	37	42	29
Nombre de mâles	3	12	20	7	24	12
% phlébotomes gorgées sur chien témoin	72%	85%	78%	60%	60%	70%

Paire C :

Vitesse du vent (m/s)	0	0,5	1	1,5	2	2,5
Température	27	30	25	26	26	25
Humidité	62	53	62	59	60	52
CHIEN TESTE : mâle C						
Nombre de femelles gorgées	61	18	19	10	43	6
Nombre de femelles non gorgées	35	50	49	84	82	98
Nombre de mâles	0	7	5	3	1	21
% phlébotomes gorgées sur chien testé	64%	26%	28%	11%	34%	6%
CHIEN TEMOIN : femelle C						
Nombre de femelles gorgées	85	59	76	60	93	58
Nombre de femelles non gorgées	15	18	19	15	28	52
Nombre de mâles	2	2	5	0	3	41
% phlébotomes gorgées sur chien témoin	85%	77%	80%	80%	77%	53%

Paire C :

Vitesse du vent (m/s)	0	0,5	1	1,5	2	2,5
Température	27	27	27	27	28	27
Humidité	62	60	59	62	61	64
CHIEN TESTE : femelle C						
Nombre de femelles gorgées	85	27	16	7	3	6
Nombre de femelles non gorgées	15	88	49	56	61	60
Nombre de mâles	2	28	7	2	5	4
% phlébotomes gorgées sur chien testé	85%	23%	25%	11%	5%	9%
CHIEN TEMOIN : mâle C						
Nombre de femelles gorgées	61	73	32	56	47	41
Nombre de femelles non gorgées	35	33	32	12	14	17
Nombre de mâles	0	49	5	5	3	5
% phlébotomes gorgées sur chien témoin	64%	69%	50%	82%	77%	71%

Analyse des résultats

Vitesse du vent (m/s)	0	0,5	1	1,5	2	2,5
Moyennes de gorgement	79%	23%	35%	14%	17%	11%
Ecart-type	11%	10%	13%	3%	13%	6%
IC _{95%}	[71%-87%]	[15%-31%]	[25%-45%]	[12%-16%]	[8%-28%]	[5%-17%]

Analyse de variance : deux facteurs sans répétition d'expérience

	0	0,5	1	1,5	2	2,5
Mâle paire A	78%	18%	39%	14%	6%	9%
Femelle paire A	83%	33%	57%	19%	29%	24%
Mâle paire B	72%	6%	22%	15%	6%	11%
Femelle paire B	94%	29%	39%	15%	24%	8%
Mâle paire C	64%	26%	28%	11%	34%	6%
Femelle paire C	85%	23%	25%	11%	5%	9%

<i>RAPPORT DÉTAILLÉ</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
Ligne 1: mâle A	6	1,64	0,273333333	0,075186667
Ligne 2: femelle A	6	2,45	0,408333333	0,060016667
Ligne 3: mâle B	6	1,32	0,22	0,06364
Ligne 4: femelle B	6	2,09	0,348333333	0,095656667
Ligne 5: mâle C	6	1,69	0,281666667	0,042176667
Ligne 6: femelle C	6	1,58	0,263333333	0,088906667
Colonne 1: 0m/s	6	4,76	0,793333333	0,011026667
Colonne 2: 0,5m/s	6	1,35	0,225	0,00915
Colonne 3: 1m/s	6	2,1	0,35	0,01668
Colonne 4: 1,5m/s	6	0,85	0,141666667	0,000896667
Colonne 5: 2m/s	6	1,04	0,173333333	0,017346667
Colonne 6: 2,5m/s	6	0,67	0,111666667	0,004216667

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Lignes ("animal")	0,137158333	5	0,027431667	4,301656996	0,00583503	2,602987402
Colonnes ("vent")	1,968491667	5	0,393698333	61,73723276	2,9467E-13	2,602987402
Erreur	0,159425	25	0,006377			
Total	2,265075	35				
